

**Contribution
à l'étude de la Lixiviation
et application
à la Teinture d'Aconit**



THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE
DEVANT LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE MONTPELLIER

LE 4 ^{mars} ~~FÉVRIER~~ 1939

Par

Jeanne BÉRANGER

~~Docteur en~~ Pharmacie 

Lauréat de la Faculté de Pharmacie

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION : PHARMACIE)

Jury { MM. ASTRUC, Doyen-Professeur, *Président*.
JAUQUES, Professeur.
GIROUX, Maître de Conférences. } *Assesseurs.*

IMPRIMERIE A. E. MACABET FRÈRES
VAISON-LA-ROMAINE (Vaucluse)

—
1939

**Contribution
à l'étude de la lixiviation
et application
à la teinture d'Aconit**

**Contribution
à l'étude de la Lixiviation
et application
à la Teinture d'Aconit**



THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE
DEVANT LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE MONTPELLIER

LE 4 ^{mars} ~~FÉVRIER~~ 1939

Par

Jeanne BÉRANGER

~~Pharmacien~~ *Pharmacien*

Lauréat de la Faculté de Pharmacie

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION : PHARMACIE)

Jury { MM. ASTRUC, Doyen-Professeur, *Président*.
 { JAULMES, Professeur.
 { GIROUX, Maître de Conférences. } *Assesseurs*.

IMPRIMERIE A. E. MACABET FRÈRES
VAISON-LA-ROMAINE (Vaucluse)

1939

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. )	Doyen.
A. FAUCON (O. ✱, I. P.  ,  , C. ✱, G. O. ✱)	Assesseur.
LEBLAYE (I. P. )	Secrétaire.

PROFESSEURS

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. )	Pharmacie galénique et industrielle.
C. HOLLANDE (I. P. )	Zoologie et microbiologie.
A. JUILLET (I. P. )	Botanique et matière médicale.
A. FAUCON (O. ✱, I. P.  ,  , C. ✱, G. O. ✱)	Pharmacie chimique.
E. CANALS (I. P. )	Physique.
M. MOUSSERON (A. )	Chimie organique.
P. JAULMES	Analyse et Toxicologie.
R. DOLIQUE (A. )	Chimie minérale.

DOYEN HONORAIRE

M. G. MASSOL (✱, I., P. )

PROFESSEUR HONORAIRE

M. F. JADIN (O. ✱, I., P. )

Doyen honoraire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.

A. ASTRUC (O. ✱, I. P. )	Hydrologie.
A. JUILLET (I. P. )	Botanique.
A. FAUCON (O. ✱, I. P.  ,  , C. ✱, G. O. ✱)	Fonctions en chimie organique.
M. MOUSSERON (A. )	Chimie biologique.
P. JAULMES	Toxicologie.
J. GIROUX	Zoologie.
J. SUSPLUGAS	Cryptogamie.
L. ASTRUC	Législation pharmaceutique.

MAITRE DE CONFÉRENCES

M. J. GIROUX

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM.

L. FARRÉ (I. P. )	Chimie et Pharmacie.
J. SUSPLUGAS	Histoire naturelle.

NOTA. — La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A mon Maître et Président de Thèse

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. ASTRUC

Doyen de la Faculté de Pharmacie

Professeur de Pharmacie galénique et industrielle

Correspondant national de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'Honneur

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. JAULMES

Professeur d'Analyse et de Toxicologie à la Faculté de Pharmacie

A MONSIEUR J. GIROUX

Maître de Conférences

J. B.

AVANT-PROPOS

Au terme de mes études, il m'est agréable de m'acquitter de la dette de reconnaissance que j'ai contractée au cours des années passées à la Faculté.

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur le Doyen Astruc de la paternelle bienveillance dont il fit toujours preuve à mon égard. Les heures agréables et instructives passées dans son laboratoire m'ont permis d'apprécier non seulement sa haute valeur scientifique, mais aussi son exquise bonté ; elles resteront un des meilleurs souvenirs de ma vie d'étudiante. C'est à ce Maître éminent que je dois l'idée directrice de mon travail ; c'est grâce à ses conseils que j'ai pu le mener à bonne fin. Je suis heureuse de lui exprimer ici ma vive reconnaissance et ma respectueuse affection.

Ma gratitude va aussi à Monsieur le professeur Jaulmes pour l'accueil si cordial qu'il m'a toujours réservé dans son laboratoire et pour la nouvelle preuve d'intérêt qu'il me donne en acceptant de faire partie de mon jury de thèse.

Qu'il me soit permis de formuler ma reconnaissance à Monsieur Giroux, Maître de Conférences, pour les conseils toujours sûrs et les encouragements qu'il n'a cessés de me prodiguer. Grâce à lui,

j'ai pu, dans l'atmosphère de sympathie et d'étroite collaboration qu'il a su entretenir au laboratoire de Pharmacie galénique, m'initier à cette science délicate qu'est la Pharmacodynamie et l'appliquer dans mes recherches. Je l'en remercie sincèrement.

Il m'est très agréable d'exprimer à mes maîtres de la Faculté de Pharmacie mes sentiments de reconnaissance pour l'enseignement qu'ils m'ont donné et la bienveillance qu'ils m'ont toujours témoignée.

Je tiens à remercier aussi mes camarades de laboratoire et tout particulièrement Messieurs Barthe et Hoarau, de l'aide amicale qu'ils m'ont toujours apportée.

Ma reconnaissante et filiale affection va également à celui qui, le premier, m'initia à l'art pharmaceutique ; son exemple et sa conscience professionnelle resteront pour moi les meilleurs guides.

J. B.

INTRODUCTION

Parmi les différentes méthodes de préparation des teintures, la lixiviation occupe une place de choix et, pour l'instant, semble bien être préférée à la macération par le plus grand nombre des pharmacologues. Elle doit cette vogue, encore plus grande, il faut bien le dire, à l'étranger que dans notre pays, à de nombreux avantages et, en particulier, à l'économie de solvant qu'elle permet de réaliser, tout en assurant un épuisement de la drogue aussi complet que possible, si bien que la Conférence internationale pour « l'unification de la formule des médicaments héroïques », réunie à Bruxelles en 1902, préconisa l'emploi de ce procédé, avec l'alcool à 70°, pour l'obtention des teintures de drogues héroïques.

Le Codex de 1908 devait adopter, en grande partie, cette conclusion, sauf pour les teintures de Noix Vomique et d'Opium qui étaient préparées à partir de l'extrait correspondant. Et il est à présumer que les résultats obtenus ont été satisfaisants, puisque le Codex de 1937 a conservé le procédé, se contentant simplement d'apporter certaines modifications de détail, en particulier pour la teinture d'Aconit.

Cependant, nous nous sommes demandée s'il ne serait pas possible de modifier la technique actuellement utilisée pour l'obtention d'une teinture de drogue héroïque, en opérant, non pas à froid, mais à chaud, et ceci, afin d'assurer, avec une économie de temps, une meilleure extraction. Nous nous inspirions en cela, de la méthode préconisée en 1910 par ASTRUC, mais avec cette différence toutefois que nous appliquions ce procédé à un liquide alcoolique et non pas à des liquides aqueux.

La première difficulté était de modifier l'appareil proposé par ASTRUC, afin d'avoir la possibilité d'opérer à une température rigoureusement constante, tout en évitant l'évaporation du solvant. Cette difficulté vaincue, il nous restait à choisir un matériel d'études convenable.

Notre choix s'est porté sur la teinture d'Aconit, médicament très employé dans la pratique pharmaceutique et dont le dosage de l'activité est désormais bien connu.

En effet, en dehors d'un procédé de dosage chimique des alcaloïdes, mis au point au laboratoire de Pharmacie galénique de notre Faculté, par ASTRUC, CANALS et BORDIER, en 1922, il existe des méthodes de dosage physiologique qu'il nous était possible, désormais, d'appliquer au laboratoire de pharmacodynamie.

Enfin, le Codex de 1937 apporte des modifications assez importantes à la préparation de la teinture d'Aconit, semblant montrer par là que le procédé de 1908 n'était pas satisfaisant à tous égards.

D'autre part, la teinture d'Aconit était intéressante par elle-même, en raison de la constitution alcaloïdique de la drogue. On admet, en effet, actuellement, l'existence, dans l'Aconit, d'un « bloc alcaloïdique » comprenant : l'aconitine ou acétylbenzoylaconine, la benzoylaconine et l'aconine, ces deux dernières bases étant beaucoup moins actives. Or, au cours de la préparation ou de la conservation, l'aconitine est susceptible de se dédoubler en benzoylaconine et même en aconine. Cette

hydrolyse serait, d'après GORIS, beaucoup plus importante en solution aqueuse qu'en solution alcoolique.

Il devenait alors intéressant de comparer les teintures des Codex 1908 et 1937, préparées respectivement avec de l'alcool à 70° et à 90°, et d'étudier les variations de leur activité au cours de la conservation.

De plus, cette hydrolyse, fonction du temps, est également influencée par la chaleur. Mais, à quelle température commence le dédoublement de l'aconitine? D'après Mme MALMANCHE (1929), à 40°, aucun phénomène ne se produit ; à 100° par contre, la « pyrolyse » est indiscutable. D'autre part, le Codex admet, d'une façon implicite, qu'à 60° déjà, il y a altération des principes, puisqu'il prescrit de ne pas dépasser cette température, pour l'évaporation de la teinture, en vue du dosage chimique des alcaloïdes.

Ces considérations nous ont amenée, à choisir, pour nos expériences de lixiviation à chaud, les deux températures intermédiaires de 35° et 50°. Et il nous a paru indispensable, pour une appréciation exacte de l'activité des préparations ainsi obtenues, d'utiliser, non seulement le dosage chimique, mais encore la méthode physiologique.

Mais, avant d'exposer les résultats de nos recherches personnelles, nous avons cru faire œuvre utile en résumant tout d'abord, l'état actuel de nos connaissances sur la lixiviation. Nous avons déjà indiqué que ce procédé est beaucoup plus utilisé, beaucoup plus étudié aussi, semble-t-il, à l'étranger qu'en France, et spécialement aux Etats-Unis et en Suisse. Nous verrons, en effet, que cette méthode, proposée en 1833 par les BOULLAY, a été fortement critiquée, en France, à ses débuts et peu étudiée au point de vue théorique. Cependant, dès 1897, FRANÇOIS GAY, professeur de Pharmacie à notre Faculté, dans un article sur la percolation, expliquait, « à la lumière des lois générales de la physique », la théorie des phénomènes qui se passent au cours de l'opération ; les données de cet auteur furent d'ailleurs reprises et complétées par GORIS, en 1919, et largement dévelop-

pées, en 1920, par ASTRUC, dans son « Traité de pharmacie galénique ». Mais il faut bien reconnaître que c'est surtout aux expériences de l'Ecole américaine que nous devons nos connaissances sur la lixiviation. De plus, les travaux tout récents (1936) de deux auteurs suisses, BUCHI et FEINSTEIN, ont permis d'apporter encore certaines précisions au problème.

Dès lors, dans la première partie de notre travail, après un bref historique de la lixiviation, pour lequel nous avons fait de larges emprunts aux articles de GAY (1897) et de GORIS (1919), nous avons examiné les théories successivement admises pour expliquer les phénomènes qui se passent au cours de l'opération. Nous avons étudié ensuite, en tenant compte des dernières notions acquises, la valeur de chacune des phases du mode opératoire, ce qui nous a permis de porter un jugement critique sur la technique du Codex et d'indiquer les modifications utiles qu'on pourrait y apporter.

Nous avons terminé par une étude de la lixiviation à chaud.

* * *

Ainsi donc, notre travail comprend deux parties bien distinctes :

la première est une mise au point de l'état actuel de nos connaissances sur la lixiviation ;

la deuxième est une étude de la préparation, par lixiviation, de la teinture d'Aconit.

D'une part, nous avons comparé les procédés des Codex de 1908 et de 1937 ; d'autre part, nous avons appliqué la lixiviation à chaud à l'obtention de cette forme pharmaceutique.

Et par ce double aspect, notre travail apparaît comme la suite logique de certaines recherches, poursuivies depuis longtemps déjà dans le laboratoire de Pharmacie galénique de notre Faculté.

Nous avons déjà signalé le mémoire de FRANÇOIS GAY sur la percolation en 1897. D'autre part, en 1906, ASTRUC montrait, avec CAMBE, l'intérêt de la lixiviation à chaud pour la prépara-

tion du sirop de Baume de Tolu. En 1909, ASTRUC et CAPILLÉRY appliquaient avec succès la lixiviation à chaud à la préparation des extraits aqueux. Enfin, en 1910, ASTRUC proposait le lixivateur qui porte son nom, lequel, ainsi que nous le verrons, vient, ces temps derniers (1939), d'être modifié.

D'autre part, en 1922, ASTRUC, CANALS et BORDIER précisaient le procédé du Codex, pour le dosage des alcaloïdes dans la poudre et les préparations d'Aconit.

PREMIÈRE PARTIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA LIXIVIATION

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE DE LA LIXIVIATION

La lixiviation ou percolation, du latin *per* : à travers et *colare* : verser goutte à goutte, est un procédé de dissolution fréquemment employé en pharmacie. Ce procédé « consiste à épuiser les substances de leurs matériaux solubles en faisant passer, à travers leur poudre, un liquide dissolvant ». Telle est du moins la définition donnée par ASTRUC, dans son « Traité de pharmacie galénique » (1920), définition qui nous a parue à la fois la plus simple et la plus complète.

La lixiviation, depuis son application à la pharmacie galénique en 1833, par les BOULLAY, père et fils, a connu des fortunes diverses, tour à tour prônée puis combattue ; il faut voir, semble-t-il, la raison de ces divergences d'opinions, ainsi que le fait très justement observer GORIS (1919), dans le fait que tous les problèmes scientifiques qui interviennent au cours de cette opération, n'ont pas été toujours suffisamment connus.

Un bref historique de cette méthode de dissolution nous permettra de montrer la valeur de cette observation.

La lixiviation semble avoir été décrite, pour la première fois, par ARISTOTE, vers l'an 350 avant J.-C., mais ce n'était nullement dans un but pharmaceutique, puisque le procédé servait à obtenir la potasse brute à partir des cendres. D'où le terme de lixiviation, venant du latin : *lixivius*, lessive des cendres.

Pendant longtemps d'ailleurs, cette méthode fut employée dans l'industrie, avant d'être appliquée à l'art pharmaceutique.

C'est ainsi qu'en 1672, le chimiste allemand LANGELOT, avait

construit un appareil, le « moulin philosophique », basé sur le principe de la lixiviation.

En 1746, le comte MURAT DE LA GARAYE décrit la préparation de l'extrait sec de Quinquina par le procédé qui fut ensuite appliqué à l'épuisement des cendres, en particulier de celles contenant du nitrate de potassium, au clairçage des sucres, et enfin, au moment de la généralisation de l'usage du café, le procédé fut appliqué... aux cafetières.

VAUQUELIN étudia ensuite le déplacement de l'eau de mer, imbibant du sable, par l'eau ordinaire qui est déplacée à son tour par une nouvelle quantité d'eau de mer.

En 1816, nous avons le filtre-presse du comte RÉAL : c'est un appareil dans lequel la poudre, préalablement humectée, est maintenue en place grâce à des disques perforés. Il est surmonté d'un long tube, rempli d'eau, afin d'exercer une pression permettant au liquide de traverser la poudre. La même année, cet appareil est utilisé par CADET DE GASSICOURT, dans la préparation des extraits de Ciguë et de Belladone. Mais, en 1826, PAYEN prétend que la pression n'est pas indispensable.

Le procédé est ensuite employé par PELOUZE (1884) pour extraire l'acide tannique des Noix de Galle.

Les BOULLAY, père et fils (1833-1835), reconnaissent, eux aussi, que la pression n'est pas nécessaire et créent leur « méthode de déplacement ». Ils utilisent un cylindre en étain, en verre ou même un simple entonnoir.

Cependant, la même année, CADET DE GASSICOURT abandonne la lixiviation et lui préfère désormais un autre mode de dissolution, la *macération fractionnée*, encore connue sous le nom de « méthode de CADET ».

Successivement GUILLERMOND (1835), ROBIQUET (1835), SOUBEIRAN (1836) critiquent et délaissent la méthode de déplacement des BOULLAY.

La discussion naît alors, non seulement en France, mais un peu partout, en Angleterre (REDWOOD, PROCTER, MABEN et INCE), en Allemagne (DIETRICH, GEIGER et MARPMANN), afin

de savoir quel est le meilleur procédé de dissolution : macération, macération fractionnée ou lixiviation.

Aux Etats-Unis, DUHAMEL (1838), WILLIAM PROCTER (1839), GRAHAM (1858), DIEHL (1858), PARRISH (1859), SQUIBB (1867), etc... prônent d'une façon indiscutable, les avantages de la lixiviation dont ils précisent d'ailleurs de nombreux détails de manipulation, si bien que le Codex de 1866 fait préparer par lixiviation au $\frac{1}{5}$, un certain nombre de teintures et d'extraits. En cela, il ne faisait d'ailleurs que suivre l'exemple de la pharmacopée d'Edimbourg qui, en 1840, avait adopté la « percolation » comme procédé de dissolution, ainsi que celui du formulaire des Etats-Unis, paru en 1843.

Mais on reconnaît, dès ce moment, les difficultés techniques de cette méthode et la discussion continue. Déjà SOUBEIRAN (1836), tout en reconnaissant la valeur du procédé, prétendait qu'il ne pouvait être appliqué en pharmacie, en raison de l'inconstance des résultats obtenus. BUIGNET (1875) constate cependant que l'on arrive à des produits identiques en opérant toujours de la même façon, mais il est nécessaire, d'après cet auteur, de posséder, à ce sujet, quelques notions pratiques. On reproche encore à la percolation de fournir, surtout dans le cas des teintures alcooliques, des préparations qui déposent pendant plus de temps que celles obtenues par macération. GALLIORS (1885) indique alors qu'il suffit, pour obvier à cet inconvénient, de laisser les teintures au repos deux ou trois jours, avant de filtrer.

Quoiqu'il en soit, dans l'intervalle, le formulaire légal de 1884, devait laisser le choix entre la macération et la lixiviation, sans insister aucunement en faveur de cette dernière.

Et la percolation fut alors délaissée, en France, pendant un certain temps, et cela, jusqu'aux travaux de WARIN (1901) qui démontre, d'une façon indiscutable, l'intérêt de la lixiviation pour l'obtention des extraits fluides.

La conférence de Bruxelles de 1902 prescrit l'emploi de cette méthode pour la préparation des teintures de drogues héroï-

ques et elle est inscrite dorénavant aux différentes pharmacopées.

Le Codex de 1908 adopte lui aussi ce procédé de dissolution et d'une façon définitive, semble-t-il ; il emploie le terme de « lixiviation », moins exact que celui de percolation, mais qui a pour lui l'avantage de la priorité. Il fournit, de plus, des détails précis sur la technique à suivre, conditions essentielles pour avoir des résultats constants.

Les travaux d'ASTRUC et CAPILLÉRY (1909), « sur la préparation des extraits aqueux du Codex de 1908 », montrent à nouveau l'intérêt de ce procédé.

Les avantages de la lixiviation sont désormais admis par la majorité des auteurs. En effet, non seulement ce procédé demande moins de temps que la macération, mais encore il permet l'épuisement avec une quantité moindre de solvant : on obtient déjà, avec six fois le poids de la drogue, une proportion notable de principes utiles alors qu'il faut employer dix fois le poids de la drogue pour la macération. Dans les mêmes conditions, on obtient des résultats nettement supérieurs avec la lixiviation.

Il est même certains cas où la lixiviation est, non seulement préférable, mais encore indispensable, comme l'indique BRIDEL (1911), pour la teinture de gentiane. Cet auteur met, en effet, en évidence que, obtenue par macération, cette teinture ne contient pas de gentiopicroïne, alors que, préparée par lixiviation, elle en renferme, dans le cas étudié 0 gr. 883 $\frac{0}{100}$. Il se produit le fait suivant : pendant la macération, la gentiopicroïne, dissoute dans l'alcool à 60°, est en contact avec l'émulsine, renfermée dans le marc, et se trouve par suite hydrolysée. Comme l'opération dure dix jours, l'hydrolyse est à peu près totale. Mais, pendant la lixiviation, au fur et à mesure que le dissolvant se charge de principes, il s'écoule. Le contact de la gentiopicroïne avec le marc contenant l'émulsine est alors réduit au strict minimum, et dans ces conditions, l'hydrolyse est extrêmement faible.

Cependant, il faut signaler qu'il y a quelques années, LÉGER (1928) trouve, au contraire, en étudiant les teintures de Quinquina, de Noix Vomique et d'Ipéca, que, par lixiviation, on n'extraît guère plus d'alcaloïdes que par macération ; et cet auteur conclut que ce dernier procédé ne mérite pas l'abandon dans lequel on l'a laissé.

BERRY et DAVIS (1935) constatent également que la teinture de Digitale est aussi active et plus constante, si elle est obtenue par macération que si elle l'est par lixiviation.

Si bien qu'on admet actuellement, que la macération suffit pour les drogues dont l'activité n'est pas très grande et que la lixiviation est préférable pour les drogues à alcaloïdes.

Quoiqu'il en soit, l'opinion de GORIS reste toujours exacte, et il est certain que la plupart des discussions, pour ou contre la méthode de déplacement, provenaient et proviennent encore de ce que l'influence des différents facteurs qui interviennent, au cours de la lixiviation, n'a pas été suffisamment approfondie.

Ceci justifie amplement, à notre avis, l'examen critique de cette méthode que nous allons faire maintenant, en tenant compte des travaux effectués jusqu'à ce jour et, en particulier, de ceux, plus récents, de BUCHI et FEINSTEIN (1936).

CHAPITRE II

THÉORIE DE LA LIXIVIATION

La théorie de la lixiviation que nous allons exposer tout d'abord est la théorie classique, telle qu'elle a été mise au point par GAY (1897), précisée par GORIS (1919) et par ASTRUC (1920) dans son « Traité de pharmacie galénique ». Nous verrons ensuite, par quelles données, il faut, à l'heure actuelle, la compléter.

Elle est basée sur le fait qu' « *un liquide qui s'est emparé des parties solubles d'une poudre au milieu de laquelle il est encore retenu, abandonne cette poudre quand on fait agir sur lui, de haut en bas, une autre portion du même liquide ou un liquide différent* » (GAY).

Il y a donc, au cours de la lixiviation, déplacement du premier liquide par le second ; essayons de préciser quelque peu cette notion, plus complexe qu'elle ne paraît de prime abord, et pour cela, étudions ce qui se produit lorsqu'on verse un liquide quelconque sur une poudre disposée dans un percolateur.

Le liquide descend d'abord à travers la poudre grâce à sa densité et à la pesanteur ; il imprègne ainsi une partie de la colonne de poudre. Mais il arrive un moment où la capillarité et les phénomènes de viscosité compensent les actions précédentes. L'équilibre s'établit, le liquide s'arrête dans sa descente.

Mais simultanément, intervient un autre phénomène, celui de l'osmose : le solvant pénètre, en effet, par osmose à l'intérieur des cellules et se charge de matières extractives solubles.

Il y a donc, dès ce moment, deux liquides différents : le liquide interstitiel, qui circule entre les fragments de la poudre végétale, et le liquide intraparticulaire qui se trouve à l'intérieur des cellules.

Ajoutons une nouvelle quantité de solvant ; le poids de cette couche détruira l'équilibre entre la capillarité et la pesanteur, en faveur de cette dernière, et la pénétration de la poudre par le solvant se continuera.

BOULLAY admettait alors que les couches de liquide se déplaçaient, avec une phase de séparation très nette, jusqu'à ce qu'elles arrivent au fond de l'allonge, d'où le nom de *méthode de déplacement*, donné, au début, à cette opération.

GUILLERMOND montre, au contraire, qu'il y a mélange des deux couches et le prouve expérimentalement, en déplaçant, par de l'eau, l'alcool fort imbibant une poudre ; il recueille, dans ces conditions, un liquide d'un degré alcoolique assez élevé au début, puis qui devient de moins en moins riche en alcool jusqu'à n'obtenir finalement que de l'eau. Cependant, nous verrons, dans un instant, que l'exemple de GUILLERMOND était mal choisi.

Il faut d'ailleurs admettre qu'il y a plus ou moins mélange des liquides au cours de la lixiviation et ceci pour deux raisons.

La première s'appuie sur la loi de GRAHAM concernant la diffusion, d'après laquelle « deux liquides mis en contact, sans mélange, ont tendance à se pénétrer et cela, d'autant plus facilement que le contact est plus prolongé et les densités plus voisines ».

Cette loi peut d'ailleurs être précisée par les trois notions suivantes, déjà indiquées par GAY et mises en évidence par ASTRUC.

a) si les deux liquides sont de *densité différente*, mais *miscibles*, il y a faible mélange au point de contact des couches, par suite de la diffusion.

b) Si les deux couches liquides sont de *même nature*, il y a tout de même une *différence de densité*, la première ayant tra-

versé la poudre a entraîné des principes solubles et se trouve plus dense que la seconde, et, là encore, il y a diffusion partielle.

c) il n'y a *aucun mélange* si l'on fait agir sur la poudre, d'abord un liquide dense, puis un liquide moins dense, les deux étant non miscibles.

C'est donc le seul cas où le mélange est impossible. Mais il est bien évident, par contre, qu'il y aura forcément mélange si l'on déplace un liquide peu dense par un liquide dense, comme le fait GUILLERMOND.

La seconde raison qui milite en faveur d'un mélange des liquides, c'est que la deuxième portion de solvant agit d'abord et surtout sur le liquide interstitiel, car le liquide intraparticulaire doit, avant de subir son influence, passer à travers la membrane cellulaire. Et ce retard entraîne le mélange des couches successives de solvant. C'est ce qu'exprime GORIS en disant que « le mélange est le résultat de la différence de vitesse de déplacement du liquide interstitiel où n'interviennent que les phénomènes de capillarité et de pesanteur, et du liquide intraparticulaire soumis d'abord aux phénomènes d'osmose et de diffusion ».

En réduisant cette différence, c'est-à-dire en ralentissant l'écoulement du liquide interstitiel, le mélange des liquides sera moins grand et l'extraction meilleure. Toutefois, il ne faut pas ralentir outre mesure cet écoulement, car, toujours d'après la loi de Graham, le contact entre les deux liquides se prolongeant, il y aura diffusion entre les deux liquides. Il existe dès lors une « *vitesse d'écoulement optima* » pour laquelle le mélange est minimum.

On a donc successivement recours, pour expliquer cette opération, à l'examen attentif des facteurs physiques suivants :

- pesanteur et densité du liquide
- capillarité ;
- viscosité ;
- osmose ;
- diffusion ;

Telle était la théorie admise jusqu'à ces dernières années : elle ne mettait en valeur que le déplacement, de haut en bas, du liquide extractif, avec mélange plus ou moins complet des couches liquides, suivant les circonstances ; elle ne tenait compte ni des courants transversaux, ni de la capacité d'extraction du nouveau solvant.

C'est à BUCHI et FEINSTEIN que revient le mérite de s'être attachés à l'étude de ces phénomènes.

Tout d'abord, ces auteurs ont attiré l'attention sur le fait que toutes les voies de passage n'ont pas le même volume ; dès lors, le liquide ne circule pas avec la même vitesse dans toutes les parties de la drogue. Il en résulte l'apparition de ce que BUCHI et FEINSTEIN appellent des « courants d'agitation » qui ont pour conséquence de favoriser les échanges entre le liquide interstitiel et le liquide vierge.

D'autre part, il est certain que les premières portions de liquide interstitiel, lorsque la poudre est complètement imbibée, mais avant que l'écoulement ait eu lieu, n'assurent pas un épuisement complet de la drogue. BUCHI et FEINSTEIN montrent que, dans ces conditions, il reste 10 % seulement d'alcaloïdes dans les portions supérieures de la poudre et 76 % dans les couches inférieures. Ceci est normal si l'on admet que le solvant se sature en principes solubles au fur et à mesure de sa descente. D'où la nécessité de déplacer ces premières parties de liquide interstitiel par du solvant neuf. Et cet apport incessant d'un liquide neuf, ayant toutes ses possibilités d'extraction, constitue précisément un des avantages de la lixiviation. Il ne faut pas croire cependant qu'un liquide, déjà saturé de certains principes, ne soit plus utile au cours de son passage à travers la drogue, car il peut se « saturer successivement de principes différents ». Souvent même, la dissolution de certaines substances entraîne une plus grande solubilité des autres corps. Tel l'exemple classique de l'acide gallique, de l'acide cinnamique et de la glucogalline qui favorisent la dissolution de la rhéopurgarine de la rhubarbe.

Enfin, BUCHI et FEINSTEIN insistent encore sur un dernier point et font observer que, dans une poudre, toutes les cellules ne sont pas entières ; près de la moitié (48 %) sont lésées et les auteurs d'en tirer la conclusion pratique : pour ces portions de cellules, il ne convient pas de parler d'échanges osmotiques mais uniquement d'un lavage progressif par diverses portions successives de solvant. Il est à remarquer que cette notion avait déjà été entrevue par GAY (1897).

Ceci dit, il reste néanmoins, toujours d'après BUCHI et FEINSTEIN, et pour le cas particulier du Quinquina qu'ils ont étudié, 52 % de cellules entières, non lésées, et pour celles-ci, l'extraction se produit par osmose et diffusion.

Les auteurs insistent sur le phénomène de diffusion, important à leurs yeux, et proposent même l'emploi de la formule de FICK sur la diffusion pour calculer la quantité de matières solubles qui passe entre le liquide interstitiel et le liquide vierge : la quantité de matières solubles qui passe est proportionnelle, à la phase limite entre les deux liquides, au rapport des concentrations aux deux côtés et au temps.

* * *

Telles sont les quelques notions théoriques que l'on connaît actuellement sur la lixiviation. Cet exposé, malgré sa brièveté, permet cependant d'imaginer la complexité des phénomènes qui se passent au cours de cette opération et de comprendre pourquoi d'innombrables controverses ont été soulevées par l'application pratique de ce procédé.

CHAPITRE III

MODE OPÉRATOIRE

A. L'APPAREILLAGE.

Plusieurs appareils ont été successivement proposés depuis l'apparition de la lixiviation, comme procédé de dissolution.

On peut les classer en deux groupes principaux :

I *Percolateurs pour liquides non volatils*

- » » pour opération à froid
- » » pour opération à chaud

II *Percolateurs pour liquides volatils*

- » » pour opération à froid
- » » pour opération à chaud

I. Percolateurs pour liquides non volatils.

— *pour opération à froid*

Le premier en date est le filtre-presse de RÉAL (1816) : c'était un vase octaédrique, en étain, à parois épaisses, surmonté d'un long tube vertical, destiné à être rempli de liquide qui, par sa pression, facilitait le passage du solvant à travers la drogue.

Vient ensuite l'appareil proposé par les BOULLAY (1835). A vrai dire, au début, ces auteurs se servaient d'un simple entonnoir de verre pour pratiquer la lixiviation, mais bientôt ils furent amenés à construire un appareil dont les caractéristiques sont les suivantes : cylindre, en étain ou fer blanc, à fond conique et terminé par un robinet, il est maintenu vertical grâce à un support et disposé au-dessus d'un flacon qui reçoit le per-

colé. D'autre part, l'intérieur est muni de deux diaphragmes entre lesquels on place la poudre à lixivier.

ROBIQUET (1851) propose ensuite un nouveau percolateur composé d'une allonge de verre (cylindre à fond conique) qui s'adapte exactement au flacon récepteur, qui est une carafe en verre épais.

Citons encore les percolateurs de SOUBEIRAN et d'ADRIAN, toujours constitués par un cylindre métallique ; mais ici, le récipient inférieur, en métal également, tient lieu de support. De plus, dans le percolateur d'ADRIAN, le percolé s'écoule par un tuyau latéral dans le récipient inférieur.

Tous ces percolateurs ont surtout un intérêt historique et ne sont plus utilisés actuellement ; il en est de même des divers appareils à pression et à aspiration dont le but était d'augmenter la vitesse d'écoulement.

Parmi les percolateurs à pression, on peut ranger le filtre-pressé de RÉAL, déjà cité, ainsi que le percolateur de PAYEN, muni d'une pompe foulante permettant d'exercer une pression au-dessus de la masse.

PAYEN a également construit un appareil d'épuisement à vide, pouvant rentrer dans le deuxième groupe, celui des percolateurs à aspiration : il emploie, pour diminuer la pression au-dessous du percolateur, le vide produit par l'écoulement de l'eau. MOHR et BERJOT adaptent, toujours dans le même but, une pompe aspirante à leur appareil.

L'emploi de ces appareils est limité actuellement aux liquides visqueux. Dans les autres cas, en effet, l'aspiration peut produire un trop grand tassement de la poudre et, par suite, un arrêt de l'écoulement. De plus, on n'a pas intérêt, comme nous le verrons bientôt, à ce que l'écoulement soit trop rapide.

Ainsi donc, l'appareil type reste le cylindre à fond conique des BOULLAY et, en France, aucun progrès vraiment substantiel n'a été réalisé dans ce domaine.

Par contre, en Angleterre et en Amérique, la forme du percolateur fut longtemps discutée. C'est ainsi que REDWOOD (1863)

préfère un appareil conique car, dit-il, les substances sont tassées d'une façon homogène et l'écoulement est alors plus régulier. STODDART et TUCKER (1872) optent, au contraire, pour un percolateur cylindrique car, d'après ces auteurs, dans le cône, les pressions latérales des parois chassant le liquide vers l'axe de l'appareil, amèneraient des courants dans le sens transversal et favoriseraient le mélange des couches liquides.

Le débat a été résolu en adoptant une solution mixte : la forme cylindro-conique. La conférence de Bruxelles de 1902 et, après elle, le Codex de 1908, indiquent alors l'emploi d'un tronc de cône renversé, terminé inférieurement par une partie infundibuliforme, prolongée en tube.

Il semblait donc que, dorénavant, la question de la forme du percolateur était résolue. Cependant, on n'avait pas encore fait d'expériences comparatives à ce sujet. Ce fut le mérite de BUCHI et FEINSTEIN (1936), qui prirent sept percolateurs de formes différentes : un entonnoir ordinaire (angle d'inclinaison de 60°) comme celui des BOULLAY et des premiers auteurs américains, un entonnoir à pointe (85°), un percolateur conique américain (88°) et quatre percolateurs cylindriques (90°), de hauteurs $\frac{h}{2}$, h , $2h$ et $3h$. Tous ont un volume identique et les auteurs opèrent rigoureusement dans les mêmes conditions.

Les deux derniers appareils, percolateurs cylindriques $2h$ et $3h$, sont à éliminer car le remplissage et la compression s'y avèrent trop difficiles. De plus, pour obtenir une vitesse d'écoulement convenable (1 cc par minute), il faut employer l'aspiration par le vide.

Quant aux autres appareils, il résulte de ces expériences que le percolateur cylindrique n'offre pas de meilleurs résultats que les percolateurs coniques 2 et 3, de même hauteur.

Toujours d'après ces auteurs, la quantité d'alcaloïdes totaux n'augmente pas avec la hauteur de la colonne de drogue. Au contraire, la concentration des premières parties du percolé (correspondant au poids de la drogue) est plus importante lors-

qu'on emploie le percolateur en pointe, ce qui serait intéressant pour la préparation des extraits fluides s'il n'y avait pas, en même temps, perte de solvant par suite d'une absorption totale beaucoup plus grande ; ceci est d'ailleurs en contradiction avec les données théoriques de ROSENWASSER (1884) et BREDDIN (1935), d'après lesquelles la concentration des premières parties du percolé ne peut être obtenue que si l'absorption est aussi faible que possible.

Il ne reste ainsi que le percolateur conique et les percolateurs cylindriques $\frac{h}{2}$ et h qui offrent une extraction totale à peu près équivalente.

Les auteurs donnent alors la préférence au percolateur qui fournit les meilleures possibilités d'emploi, c'est-à-dire le percolateur conique américain, préconisé par DIEHL (1878).

La forme du percolateur n'aurait, par suite, pas l'importance qu'on lui attribuait, même en comparant l'effet de l'inclinaison ou de la différence de hauteur du percolateur.

Cependant, HUSA et HUYCK (1938) obtiennent de meilleurs résultats avec le percolateur cylindro-conique ou l'entonnoir qu'avec des tubes en verre plus étroits.

Si bien que la forme tronconique, actuellement admise par la Conférence de Bruxelles et le Codex français, peut être conservée. Elle est d'ailleurs pratique et assure, par suite de son emploi assez généralisé, une certaine uniformité.

La forme étant déterminée, quelles dimensions donner à cet appareil ?

OLDBERG proposait, en 1884, un percolateur cylindroconique ayant :

36 cm comme hauteur du cylindre

5 cm comme hauteur du cône terminal

10 cm de diamètre supérieur

et 6 cm 5 de diamètre inférieur.

L'angle des parois du tronc de cône avec la normale est alors de 4°.

DEANE, quelques années plus tôt, préconisait une inclinai-

son paroi s/base de 82° , ce qui, exprimé comme précédemment correspond à un angle de 18° .

Il est bien spécifié d'ailleurs que ce sont les dimensions d'un appareil destiné à 500 grammes de poudre.

WARIN (1901) confirme les données d'OLDBERG et trouve que l'angle le plus favorable, quelle que soit la taille du percolateur, est un angle de 5° . On diminue, dans ces conditions, le frottement de la masse liquide contre les parois rigides de l'appareil.

La conférence de Bruxelles de 1902 et le Codex de 1908 adoptent également, pour un percolateur de deux litres de capacité et 500 grammes de poudre, les dimensions mentionnées par OLDBERG et WARIN, et ceci, en particulier, pour l'angle des parois du tronc de cône avec la normale : celui-ci doit être sensiblement de 3° , mais, en tout cas, ne doit jamais dépasser 5° .

Les caractéristiques du percolateur officinal sont donc celles indiquées pour l'appareil d'OLDBERG ; de plus, le Codex précise que le diamètre du tube d'écoulement doit être de 1 cm.

Tels sont donc les résultats auxquels on est arrivé dans la pratique. Examinons maintenant, à la lumière de la théorie, quelles seraient les dimensions à adopter.

L'idéal serait, comme nous l'avons vu, d'obtenir la plus grande surface de contact possible. Et, pour établir le rapport entre cette surface de contact et les dimensions à donner au percolateur, il faut appliquer, avec GORIS, la formule suivante.

$$S_t = \pi \cdot S \cdot \frac{h}{d}$$

s = surface de section du cylindre

h = hauteur du cylindre

d = diamètre de chaque grain de poudre considéré comme sphère.

Pour que la surface totale soit la plus grande possible, il faut donc h très grand ou d très petit, mais d varie avec le degré de compression de la poudre et h aussi. Il faudrait donc un appareil

différent pour chaque grosseur de poudre, ce qui serait vraiment excessif.

KESSLER (1935) prétend que l'extraction varie proportionnellement avec la hauteur de la colonne de poudre. Il oublie cependant un facteur et KOCK (1935) précise que l'extraction, pour une *même vitesse de passage*, augmente avec la hauteur de la colonne de drogue. Mais nous avons vu que celle-ci varie avec le degré de finesse de la poudre et on arrive alors au même résultat que GORIS : un appareil différent pour chaque gros-seur de poudre.

Par suite, si la théorie permet d'éclaircir la question, elle ne donne cependant pas, en définitive, de solution pratique, c'est-à-dire un appareil pouvant être employé dans tous les cas.

Il faut alors conserver l'appareil qui, dans la pratique, a donné les meilleurs résultats, c'est-à-dire le percolateur officinal.

Il nous reste à étudier maintenant les percolateurs permettant à la lixiviation de s'effectuer, non plus à la température ordinaire, de 15 à 20°, mais à des températures relativement élevées, jusqu'à 80° ou 100°.

— *pour opération à chaud.*

Un seul percolateur a été décrit jusqu'à présent, c'est le percolateur ASTRUC (1910).

C'est un appareil ordinaire, présentant les dimensions indiquées par le Codex, mais il est à double paroi. Cette double paroi est destinée à recevoir de l'eau que l'on chauffe, grâce à une rampe à gaz, à glissières verticale et horizontale, placée au bas de l'appareil. L'espace entre les deux parois est de 2 cm. Un des orifices permet l'introduction et la vidange de l'eau, l'autre laisse passer un thermomètre,

Ce percolateur est à la fois simple et pratique, et permet d'opérer à 80°. Il est employé généralement pour la lixiviation aqueuse.

Nous verrons plus loin comment nous avons été amenée à modifier cet appareil et à l'adapter à l'épuisement des drogues par l'alcool.

Les percolateurs précédemment décrits étaient réservés à la lixiviation avec des liquides non volatils ; nous allons passer rapidement en revue maintenant, ceux qui sont utilisés pour effectuer cette opération, avec des liquides volatils.

II. Percolateurs pour liquides volatils.

Les percolateurs pour liquides volatils (éther-chloroforme-sulfure de carbone) sont destinés à empêcher la perte de dissolvant, aussi l'allonge et le récipient s'adaptent-ils exactement l'un sur l'autre.

Ils diffèrent également selon la température à laquelle on opère.

— *pour opération à froid.*

Le percolateur de GUIBOUT est le type de ces appareils pour les opérations à froid. Dans ce percolateur, le sommet de l'allonge communique avec le flacon inférieur par un tube recourbé.

— *pour opération à chaud.*

Lorsqu'on opère à chaud, on emploie les appareils dits « à extraction continue », dans lesquels « on épuise la substance avec la plus petite quantité possible de liquide volatil ». Le principe de ces appareils est de récupérer le solvant, après volatilisation et condensation, afin de l'employer à nouveau pour l'épuisement de la drogue.

Le premier en date est le digesteur de PAYEN (1845). Il se compose essentiellement d'un ballon à deux tubulures, destiné à recevoir le dissolvant, d'un percolateur contenant la poudre à épuiser et enfin, d'un nouveau ballon à deux tubulures supporté par le percolateur. Les deux ballons sont reliés entr'eux par un tube latéral et le ballon supérieur porte, en outre, un tube de sécurité à boules qui constitue une fermeture hydraulique.

Les vapeurs du liquide, porté à l'ébullition dans le ballon

inférieur, vont se condenser, en passant par la tube latéral, dans le ballon supérieur et le liquide obtenu s'écoule alors sur la drogue, puis dans le ballon où il est à nouveau volatilisé.

L'inconvénient de cet appareil est que la condensation des vapeurs n'est pas toujours complète, d'où les modifications successives de KOPP (1849), SCHMIDT (1876) qui remplace le ballon supérieur par le réfrigérant de LIEBIG, BARBIER (1876), GUÉRIN (1879).

Les appareils de DAMOISEAU, GUICHARD, BARDY sont à rapprocher des précédents ; mais ces derniers présentent l'inconvénient de chauffer la substance en même temps que le solvant.

Enfin, toujours basé sur le même principe, nous avons l'appareil de SOXHLET, utilisé dans les laboratoires, pour des analyses quantitatives. C'est un percolateur en verre soufflé qui s'adapte, d'une part, à un récipient inférieur contenant le liquide volatil, d'autre part, par la partie supérieure, à un réfrigérant. La partie cylindrique de l'appareil porte, en plus du tube destiné à relier les portions extrêmes de l'allonge, un autre tube, plus étroit, jouant le rôle de siphon qui, une fois amorcé, amène le liquide extractif dans le récipient inférieur.

L'appareil de KUMAGAVA ne diffère du précédent que par le réfrigérant qui est adapté au ballon inférieur. Le résultat de ce dispositif, c'est que la lixiviation se fait à une température un peu plus élevée que dans l'appareil de SOXHLET.

Dans l'appareil de BARTHE enfin, le percolateur est placé dans le réfrigérant lui-même, ce qui rend l'appareil plus simple et moins fragile.

Ce sont ces derniers appareils qui, avec le percolateur de GURBOURT, restent les plus utilisés.

* * *

Dans ce chapitre, après avoir décrit rapidement les divers types d'appareils successivement proposés, en France, pour l'épuisement des drogues par lixiviation, avec liquides volatils ou non, nous avons pu montrer, en nous appuyant, d'une part

sur les travaux de BUCHI et FEINSTEIN, d'autre part sur ceux de GORIS, que l'appareil utilisé par le Codex donnait, en somme, des résultats satisfaisants dans la pratique.

B. LA DROGUE ET LE SOLVANT.

Ayant ainsi précisé la forme et les dimensions de l'appareil à utiliser, il nous reste à déterminer, avant d'aborder l'étude de la technique elle-même, l'influence de la drogue et du solvant sur la bonne marche de l'opération.

I. La drogue.

Degré de finesse de la poudre.

La substance médicamenteuse employée doit d'abord être réduite en poudre et le degré de finesse de cette poudre ainsi que son homogénéité ont, au cours de la lixiviation, une importance capitale.

On sait, en effet, que la « dissolution d'une substance se fait par les surfaces de contact » (GORIS) ; or, il est bien évident que, plus les parcelles seront petites, plus leur surface sera grande, pour un même volume. La poudre la plus fine devrait alors donner les meilleurs résultats. Mais, avec une poudre trop divisée, on tend à supprimer les espaces intercellulaires et on obtient alors une masse uniforme sur laquelle l'action du solvant est, par suite, restreinte. Il y aura, en même temps, élévation de l'absorption par capillarité.

Il y a donc un *degré de ténuité optimum* et, c'est ce qui complique le problème, ce degré est variable avec chaque poudre.

Dans la pratique, il faut une poudre, ni trop fine, afin d'éviter le colmatage et par suite l'arrêt de l'écoulement, ni trop grossière afin, au contraire, d'éviter les fausses voies et de permettre, par le solvant, l'imbibition de toutes les particules de la drogue.

On peut admettre comme règle générale, qu'avec l'eau,

les substances doivent être moins divisées qu'avec les liquides organiques tels que éther, chloroforme, benzine, alcool ; car l'eau gonfle les parois végétales et favorise le tassement, ce qui constitue alors un obstacle au passage du solvant.

C'est d'ailleurs pour cette raison que les substances mucilagineuses ou riches en amidon, gonflant énormément sous l'action de l'eau, sont employées en poudre grossière.

Le Codex de 1908 précise, pour chaque drogue, le numéro de tamis à employer correspondant, suivant le cas, à une poudre grossière, demi-fine ou fine, cette dernière seulement pour les extraits de Kola, Quinquina et Ratanhia.

Mais une notion que l'on ne met pas suffisamment en valeur est celle de l'*homogénéité* de la poudre. Pendant la pulvérisation, en effet, beaucoup de parties fines sont encore écrasées, si bien qu'une poudre dite demi-fine contient un grand nombre de parcelles plus fines et même les poudres grossières en contiennent encore une forte proportion.

La pharmacopée américaine a introduit une poudre, appelée « normierte », qui autorise jusqu'à 40 % de parties plus fines. La pharmacopée suisse ne tolère, pour les poudres devant servir à la lixiviation, que 10 à 20 % de parcelles plus fines que celles devant passer au tamis désigné.

Mais BORN (1935), en étudiant la poudre de Quinquina, a montré que la poudre, obtenue mécaniquement, contenait plus de 60 % de parties plus fines. BUCHI et FEINSTEIN (1936), reprenant ces expériences, toujours sur le Quinquina, arrivent aux mêmes résultats.

Il serait intéressant d'effectuer les mêmes recherches sur les poudres de la pharmacopée française, et de vérifier si toutes répondent parfaitement aux exigences de notre formulaire légal qui autorise 40 % de parties plus fines que celles passant au numéro du tamis indiqué.

Car, ainsi que l'indique PRAUSNITZ (1933), la différence de volume des parcelles de drogue amène forcément, au cours de l'opération, une différence dans la grosseur des capillaires et,

par suite, une irrégularité de la vitesse de passage.

Degré d'humidité de la poudre.

Le Codex précise également de dessécher la poudre 24 heures à l'étuve à 35°. Cette dessiccation permet, d'abord, d'opérer dans des conditions identiques, en particulier pour les préparations à base de feuilles, celles-ci pouvant présenter des teneurs en eau très variables. Or, cette eau diluera les premières parties de liquide, d'où action différente du solvant. De plus, la membrane cellulaire, ainsi desséchée, pourra, au cours de la macération préalable, s'imprégner du solvant lui-même, ce qui facilitera les échanges.

La poudre doit donc présenter un degré de finesse et un degré d'humidité bien déterminés.

II. Nature du solvant.

Les solvants employés sont de natures très diverses : eau, alcool, éther, benzine, chloroforme, etc... ou encore un mélange de ceux-ci.

Nous avons déjà vu les précautions à prendre lorsque l'on utilise l'eau comme véhicule extractif. Par suite du gonflement de la poudre, qui peut arriver à entraver complètement l'opération, il convient de n'utiliser que des poudres très grossières ; dans certains cas, il faut même mélanger la substance avec du sable ; aussi le Codex a-t-il conservé cette technique seulement pour la préparation des extraits de Seigle ergoté et de Douce-amère.

Dans le cas du véhicule alcoolique, ce qu'il importe surtout de considérer, c'est son titre. D'une façon générale, comme le fait remarquer GORIS, l'alcool ne doit pas être trop concentré car alors les substances solubles dans l'alcool seront vite enlevées et il faudra employer ensuite des quantités importantes de solvant pour extraire les substances solubles dans l'eau ; il ne doit pas être, non plus, trop dilué, sinon c'est l'inverse qui

se produit : les substances solubles dans l'eau passant immédiatement dans le liquide extractif.

D'ailleurs, le degré alcoolique doit varier avec chaque drogue. Ceci fut mis en valeur, pour la première fois, par PERSONNE (1845) qui indiqua le titre alcoolique favorable dans chaque cas, ainsi que la proportion d'alcool à utiliser. C'est ce qui explique les degrés divers employés actuellement, depuis 30° jusqu'à 90°. L'alcool à 60° est fréquemment utilisé ; on réserve l'alcool à 80° pour les substances résineuses et l'alcool à 90° pour les résines elles-mêmes, les baumes, les térébenthines. Quant à l'alcool à 70°, il est employé, depuis 1902, pour la préparation des teintures de drogues héroïques ; cependant, à l'heure actuelle, les teintures d'Aconit et de Chanvre Indien sont obtenues avec l'alcool à 90°.

La lixiviation avec l'éther ou les liquides volatils ne présente aucune difficulté particulière. Il suffit d'utiliser un percolateur spécial, parmi ceux décrits plus haut, afin d'éviter l'évaporation du solvant.

L'importance de l'appareil, de la drogue et du solvant étant ainsi précisée, nous allons étudier maintenant les différentes phases du mode opératoire.

C. LA TECHNIQUE.

La conduite de la lixiviation exige une série de manipulations que nous allons examiner successivement :

- humectation préalable de la drogue avant la mise dans le percolateur.
- remplissage du percolateur et durée de l'influx.
- macération dans le percolateur.
- écoulement du percolé.
- déplacement du liquide d'extraction restant dans le marc.

1° Humectation préalable.

La question de l'humectation préalable de la poudre, avant

la mise dans le percolateur, suscita de nombreuses discussions.

Au début, on utilisait la drogue sèche (BOULLAY, GALLOIS, GUILLERMOND, PROCTER). Cependant RÉAL déjà, en 1816, proposait l'emploi d'une drogue humectée. GEIGER (1835) adopte également cette technique, après l'avoir critiquée pendant un certain temps. SOUBEIRAN (1835) lui-même, en reconnaît, par suite, la nécessité.

Actuellement, on humecte toujours la poudre avant d'en remplir le percolateur. DIEHL, KELLER, WOB, SQUIBB, WARIN, HERZOG, BRANDEL et KREMENS, GORIS voient dans ce procédé, des avantages pratiques ; COUCH, HATCHER et LICHTMANN, KELLY et KRANTZ, ASTRUC, BENTLEY justifient la macération préliminaire par des arguments théoriques.

Ces arguments sont nombreux. Il est aisé de comprendre en effet que, pendant la dessiccation, les cellules végétales perdent de l'eau et diminuent de volume, le protoplasme se contracte en une couche mince et les matières solubles elles-mêmes précipitent en raison de la concentration du suc cellulaire. Or, pour que la diffusion puisse se produire, à travers la membrane, il faut d'abord que celle-ci reprenne sa structure initiale et ensuite que les principes actifs passent à nouveau en solution.

Tous ces phénomènes se produisent lors de la macération préliminaire, avant la mise dans le percolateur. Au contact du liquide qui humecte la paroi cellulaire, les matières pectiques se gonflent, redonnant, en partie, à celle-ci son aspect et sa structure primitive. Le liquide pénètre même à l'intérieur des cellules, chassant peu à peu devant lui, l'air qui s'y trouve. La tension superficielle devient plus faible grâce à l'alcool et le processus se poursuit de plus en plus rapidement.

A vrai dire, comme l'a montré PALME (1918), c'est surtout l'eau qui intervient, au cours de cette macération, pour gonfler les matières pectiques. Après lui, HUSA et MAGID (1934) ont également insisté sur le fait que l'eau pénétrait plus rapidement et en quantité plus importante que l'alcool. On n'a donc pas

toujours intérêt à employer un alcool de titre élevé pour cette humectation préalable.

La macération préliminaire de la poudre, avant la mise dans le percolateur, se justifie donc pleinement, puisqu'elle facilite les échanges et, par suite, l'épuisement de la drogue.

D'ailleurs, cette humectation préalable présente également un intérêt au point de vue pratique, car le tassement se fait beaucoup plus régulièrement après le gonflement de la poudre, et on n'a pas à craindre de modifications ultérieures.

Mais si l'avantage de l'humectation préalable de la poudre est un fait acquis, dans quelles conditions doit-on la pratiquer ?

En effet, si les prescriptions des diverses pharmacopées sont comparables quant à la quantité de liquide à employer : 0,5 le plus souvent pour une partie de poudre (les limites extrêmes étant de 0,3 à 0,7), il n'en est plus de même pour la durée de gonflement qui varie entre 2 et 12 heures. Il est assez curieux de constater, à ce sujet, que la pharmacopée suisse de 1907 (4^{me} éd.), prescrivait un temps de gonflement de 12 heures alors que celle de 1935 (5^{me} éd.), le réduit à 2 heures seulement. Le Codex français fixe une durée de 2 à 4 heures.

BUCHI et FEINSTEIN ont fait, en 1936, des expériences sur le Quinquina, en employant, pour une même quantité de poudre des proportions de liquide, ainsi que des temps de macération différents.

D'après ces expériences, le Quinquina demande 3 heures pour le gonflement total, mais 2 heures suffisent pour le « pré-gonflement » qui s'achèvera ensuite dans le percolateur. De plus, la teneur alcaloïdique des percolés obtenus diffère très peu avec la proportion de liquide employé : de 0,2 à 1 partie de solvant pour 1 partie de drogue.

On peut donc admettre, ici encore, que les données du Codex (1) : deux à quatre heures de macération avec, comme quan-

(1) Il est bien évident que cette macération préalable doit être supprimée, comme l'indique le Codex, avec l'éther et les liquides volatils en général.

tité de liquide, la moitié du poids de la substance, sont favorables à une bonne extraction.

Il convient ensuite, avant de verser la poudre dans le percolateur, de la passer à travers un tamis à larges mailles et ceci, toujours pour respecter le principe de l'homogénéité. Cette manipulation a paru, pour la première fois, à la pharmacopée des États-Unis, en 1880.

2^o Remplissage du percolateur et durée de l'influx.

Deux détails de l'opération dont l'importance n'a pas été suffisamment dégagée et qui ont cependant une certaine influence sur l'extraction, sont le remplissage du percolateur et la durée de l'influx, c'est-à-dire de la pénétration du liquide.

A dire vrai, la question du remplissage du percolateur a fait l'objet de quelques travaux. CADET DE GASSICOURT (1816) s'en occupait déjà et était partisan du tassement de la poudre. BOULLAY (1833) comprimait plus ou moins la drogue suivant les circonstances. SOUBEIRAN (1836), le premier, comprend toute l'importance de ce détail opératoire : il fait varier la compression suivant la nature de la drogue employée et construit des échelles de pression. GRAHAM (1858), lui, fait varier le tassement avec la nature du solvant mais il ne comprime la poudre, qu'après avoir versé le liquide, et ceci, afin d'éviter la formation de voies horizontales.

ASTRUC (1920) prescrit de verser la poudre par petites quantités et de niveler, chaque fois, en tapotant les parois de l'appareil. La dernière couche doit être légèrement pressée. Cet auteur fait d'ailleurs intervenir, de même que SOUBEIRAN (1836) et REMINGTON (1926), la finesse de la poudre ainsi que la hauteur de la colonne de drogue. Il indique même de disposer un ou deux diaphragmes percillés si cette hauteur est trop considérable.

La plupart des pharmacopées ne donnent aucune précision à ce sujet. Cependant, les pharmacopées néerlandaise et allemande indiquent, pour les petites quantités, de remplir en une

fois et de presser faiblement ; et, pour les grandes quantités, cette dernière recommande d'opérer en prenant un certain nombre de précautions qui sont celles préconisées par ASTRUC.

Le Codex de 1937 prescrit, comme celui de 1908, de « tasser légèrement de façon à éviter la formation de cavités ou de couches de consistances différentes ». La dernière couche est recouverte d'un diaphragme percillé ou d'une rondelle de drap ou de papier filtre, fixée avec une légère couche de sable ou de verre lavé.

Toutefois, HUSA et HUYCK (1936), étudiant la racine de Beladone, constatent qu'une légère compression est préférable car elle donne, au début, des solutions plus concentrées.

D'après ROSENWASSER (1881) et BREDDIN (1935), une faible absorption et une longue durée d'influx, facteurs de bons résultats, ne peuvent être obtenues qu'avec une forte compression.

Les avis, nous le voyons, sont partagés. Il semble cependant qu'un tassement tout à fait léger devrait suffire, afin de permettre le « post-gonflement » dans le percolateur.

BUCHI et FEINSTEIN (1936) font alors des expériences comparatives, toujours sur le Quinquina, en employant trois degrés de compression différents, c'est-à-dire :

a) un remplissage léger dans lequel la masse de drogue est introduite en une seule fois ou par portions, mais sans être tassée ; seule, la couche superficielle est faiblement aplatie.

b) une faible compression pour laquelle la drogue est introduite par portions et chaque couche faiblement nivelée.

c) enfin, une forte compression pour laquelle chaque couche de drogue est fortement nivelée.

Ces auteurs ont même fait deux groupes d'expériences afin d'apprécier en même temps, l'influence de la durée de l'influx, étudiée jusqu'ici seulement par VAN DER WIELEN (1928), BREDDIN (1935), KESSLER (1935) et KOČK (1935). Dans le premier groupe, le liquide entre librement dans la poudre ; dans le deuxième, la vitesse de pénétration est réglée.

Il résulte de ces expériences que l'on obtient de meilleurs résultats, pour l'extraction des alcaloïdes, en utilisant une faible compression et ceci, indépendamment de la durée de l'influx. Dans le deuxième groupe, lorsque la vitesse de pénétration est réglée, on obtient aussi d'excellents résultats avec une compression presque nulle.

De plus, la durée de pénétration du liquide ou de l'influx, comme l'on dit, a une influence marquée, quel que soit le degré de compression, sur la concentration des premières parties du percolé. Ceci confirme les données de BREDDIN, KESSLER et KOCK.

La meilleure extraction s'obtient donc en utilisant une faible compression, ce qui revient, en somme, à la méthode ASTRUC : on verse la drogue par petites portions, on nivelle chaque fois en tapotant les parois de l'appareil et on presse légèrement la couche superficielle. Ceci correspond également aux prescriptions des pharmacopées française, américaine et suisse.

De plus, il conviendrait, d'après les expériences précédentes, de régler la vitesse de pénétration du liquide, c'est-à-dire de le verser d'une façon lente et régulière, du moins goutte à goutte. Et ceci a une importance toute particulière pour la préparation des extraits fluides, en raison du rôle prépondérant de la durée de l'influx sur la concentration des premières parties du percolé. Dans ce cas, la vitesse la plus propice serait, d'après BUCHI et FEINSTEIN, de deux gouttes par minute pour 100 grammes de poudre. Il semble cependant que, dans de telles conditions, la durée de l'opération serait trop prolongée pour une augmentation de résultats de 2 % seulement et, en pratique, l'écoulement goutte à goutte suffit.

3° Macération dans le percolateur.

La drogue étant ainsi imbibée et placée dans le percolateur, on verse donc le liquide goutte à goutte jusqu'à ce qu'il forme au-dessus de la poudre, une couche de 2 à 3 cm., couche qui devra demeurer pendant toute la durée de l'opération. On ferme alors le robinet et on laisse macérer.

Cette phase de l'opération a été, comme toutes les autres, fortement discutée. Au début, cette macération était la seule employée, puisque BOULLAY n'admettait pas l'humectation préalable. MOHR, le premier, en 1839, parle de la macération comme d'une phase spéciale. Après lui, PROCTER (1859), REDWOOD (1863), SAVAGE (1864), CAMPBELL (1869), TAYLOR (1869), ROBBINS (1878) la considèrent comme une phase nécessaire.

Mais il faut arriver à SQUIBB (1878) pour voir préciser la durée de cette macération à l'intérieur du percolateur. Et cette notion devient officielle avec la pharmacopée des Etats-Unis de 1887. Actuellement, les différentes pharmacopées ne sont d'ailleurs pas d'accord pour la durée de la macération : pharmacopée suisse, 12 heures ; pharmacopée américaine, 48 heures ; pharmacopée française, 24 à 96 heures.

D'ailleurs, si la macération de la drogue dans le percolateur a ses partisans, elle a aussi ses détracteurs.

En effet, LLOYD (1878) trouve de meilleurs résultats, au cours de ses expériences sur le Cimicifuge, en supprimant la macération. HATCHER et LICHTMANN (1921) obtiennent, avec le Strophantus et l'Aconit, une extraction sensiblement analogue, qu'ils opèrent avec ou sans macération. Les recherches de BRIDEL et Mlle BAREL (1925) confirment celles de HATCHER et LICHTMANN. BRIDEL et Mlle DESMARETS (1928), d'une part, FREUDWILLER (1934), d'autre part, pour l'extrait d'Aconit, et enfin HUSA et YALES (1935), pour la racine de Belladone, arrivent aux mêmes conclusions.

Cependant, la macération paraît bien avoir un effet favorable, car elle ramollit les substances, les rend plus perméables et augmente le tassement dans la plupart des cas.

BUCHI et FEINSTEIN étudient systématiquement cette phase de l'opération et ils effectuent, dans ce but, trois expériences, strictement dans les mêmes conditions, en faisant varier seulement le temps de macération : celle-ci est supprimée dans le premier cas ; elle est d'une durée de six heures dans le deuxième et de douze heures dans le troisième. Ce temps de douze heures

est considéré comme maximum à la suite de recherches préliminaires qui ont montré qu'on n'obtenait pas une meilleure extraction avec des temps de macération prolongés de 24, 48 et même 72 heures.

Les conclusions de ces auteurs sont les suivantes : on arrive à de meilleurs résultats au point de vue extraction des principes actifs, lorsqu'on effectue la macération dans le percolateur que lorsqu'on la supprime. De plus, la concentration, en principes utiles, des premières parties du percolé augmente avec la durée de macération, jusqu'à la durée maxima de douze heures. Si bien que, d'après BUCHI et FEINSTEIN, on peut effectuer, dans tous les cas, une macération de douze heures à l'intérieur du percolateur, avant de laisser le liquide s'écouler. Cette précaution sera excellente, en particulier, dans l'obtention des extraits fluides où l'on a intérêt à obtenir une extraction maxima dans les 80 premières parties de liquide qui s'écoulent, afin d'éviter l'emploi d'une trop grande quantité de solvant pour terminer l'opération.

Par contre, la macération à l'intérieur du percolateur perd de son intérêt dans l'obtention des teintures. Dans ce cas, en effet, si l'on ne pratique pas la macération, les dernières parties du percolé sont un peu plus chargées et les premières un peu moins, que si on a laissé la drogue macérer. Mais, en définitive, on arrive, approximativement, au même résultat. Cependant, même pour les teintures, les auteurs conseillent une macération de six heures : ceci, afin de faciliter la diffusion cellulaire. En opérant trop rapidement, certains principes pourraient rester insolubles.

Ces expériences permettent de comprendre, en grande partie, les divergences d'opinions sur l'intérêt de cette macération. En effet, on obtient, par ce procédé, dans le cas des teintures en particulier, où la plus ou moins grande concentration des premières parties du percolé n'a aucune importance, une extraction en principes utiles, sinon complète, du moins satisfaisante. Or, cette technique de lixiviation, sans macération,

a été préconisée, surtout pour la préparation des teintures.

Ayant répété nous-même, les expériences de BUCHI et FEINSTEIN, mais en opérant sur la poudre d'Aconit et non plus sur celle de Quinquina, nous n'avons pu que confirmer les données de ces auteurs, et nous persuader qu'une macération de douze heures dans le percolateur était suffisante pour permettre le gonflement des particules de drogue et nécessaire aussi pour assurer un épuisement ultérieur convenable. C'est ce temps de macération de douze heures que nous avons adopté au cours de nos recherches.

Ainsi donc, sans arriver jusqu'aux conclusions extrêmes de HATCHER et LICHTMANN, et de BRIDEL et de Mlle BAREL qui suppriment complètement la macération, nous pensons cependant que la durée de cette opération, située entre 24 et 96 heures par le Codex, pourrait, sans inconvénient, être ramenée à douze heures seulement.

4^o Écoulement du percolé.

Nous avons déjà vu qu'il existe une « *vitesse d'écoulement optima* », favorable à une bonne extraction.

Cependant, au début, on ne lui attribuait qu'une importance relative, puisque la vitesse n'était réglée que par le remplissage : GEIGER (1825), BOULLAY (1833) utilisaient, en effet, un écoulement libre. Il en est de même dans les pharmacopées jusqu'en 1873.

C'est encore à SQUIBB (1858) que revient le mérite de la régulation mécanique de l'écoulement du percolé et il en fixe la vitesse à 30 gouttes par minute, pour 500 grammes de drogue. DIEHL (1859) propose de ne pas dépasser 60 gouttes par minute, ceci, toujours pour 500 grammes de drogue.

Certaines pharmacopées indiquent la vitesse d'écoulement :
pharmacopée allemande : 40 gouttes par minute.

« suisse : 12 à 20 « « «

« américaine : 10 à 30 « « «

pharmacopée française : une fois et demie environ le poids de la drogue en 24 heures.

Et, jusqu'à ces dernières années, on avait tendance à régler l'écoulement du liquide, par rapport à la masse de drogue (WARIN 1901).

Toutefois, d'après certains auteurs, la durée de la percolation peut être considérablement diminuée. HATCHER et LICHTMANN (1921) réduisaient déjà la préparation d'une teinture à trois ou quatre jours seulement ; BRIDEL et Mlle BAREL (1925) l'obtiennent même en 24 heures.

Il semble cependant qu'une technique aussi rapide s'oppose au principe même de la lixiviation : « une certaine lenteur dans l'écoulement est une condition indispensable à l'épuisement des tissus végétaux, par une petite quantité de liquide », indiquait SOUBEIRAN en 1836.

D'ailleurs, si l'on veut, avec BUCHI et FEINSTEIN, établir théoriquement la meilleure vitesse d'écoulement, il est bien évident qu'il faut l'établir en comparaison de la vitesse de passage du solvant à travers la poudre. Cette vitesse de passage est elle-même en rapport avec la quantité de drogue à lixivier, ce qui est normal, et aussi avec la forme du percolateur.

La forme du percolateur joue, en effet, un rôle primordial, car, plus le diamètre du percolateur est grand, plus la vitesse de passage est petite pour une même quantité de liquide.

Or, le volume V de liquide qui imprègne la masse de drogue est égal à :

$$V = \left(\frac{d}{2}\right)^2 \pi h \quad (1)$$

d étant le diamètre du percolateur et h la hauteur de la colonne de drogue.

Mais la vitesse de passage e peut être considérée comme l'espace parcouru par le volume a de percolé qui s'écoule pendant l'unité de temps. Or, cet espace n'est autre que la hauteur de la colonne de drogue dans le percolateur.

Par suite, en appliquant la formule (1) à ce qui se passe pendant l'unité de temps, on a pour a , c'est-à-dire pour le volume de percolé qui s'écoule pendant l'unité de temps :

$$a = \left(\frac{d}{2}\right)^2 \pi e$$

ce qui donne :

$$e = \frac{a}{\left(\frac{d}{2}\right)^2 \pi}$$

Or, d'après l'équation (1), on peut remplacer :

$$\left(\frac{d}{2}\right)^2 \quad \text{par} \quad \frac{V}{\pi h}$$

et on obtient alors :

$$e = \frac{a h}{V} \quad (2)$$

Mais en réalité, cette formule exige une correction, car V , c'est-à-dire le volume qui imprègne la masse de drogue, doit être décomposé en deux parties : l'une, qui pénètre, par osmose, à l'intérieur des cellules, c'est le liquide intraparticulaire, v ; l'autre, qui reste interposée simplement entre les particules de drogue, c'est le liquide interstitiel, v' . Donc $V = v + v'$

Or, seul, le liquide interstitiel intervient dans le calcul de la vitesse de passage ; si bien, qu'en pratique, la formule précédente doit s'écrire :

$$e = \frac{a \times h}{v'}$$

Nous voyons donc que la *vitesse de passage* (e) est *proportionnelle à la vitesse d'écoulement* (a), *à la hauteur de la colonne de drogue* (h). et *inversement proportionnelle au volume interstitiel* (v').

La formule précédente peut d'ailleurs s'écrire d'une autre façon :

$$a = \frac{e \times v'}{h}$$

et, sous cette forme, elle nous montre que la *vitesse d'écoulement* (a) est *proportionnelle à la vitesse de passage spécifique de la drogue* (e), *au volume interstitiel* v' et *inversement proportionnelle à la hauteur* (h) *de la colonne de drogue*.

Mais alors, d'après cette formule, la *vitesse d'écoulement*

n'augmente pas proportionnellement à la masse de drogue comme on a tendance à l'admettre.

D'autre part, il est indispensable de tenir compte, pour son évaluation, de la hauteur de la colonne de drogue à l'intérieur du lixiviateur. Et même, si e et v' restent constants, cette vitesse d'écoulement sera inversement proportionnelle à h , ce qui revient à dire que, plus la hauteur de la colonne de poudre sera grande, plus la vitesse d'écoulement sera lente, pour une même vitesse de passage. De plus, cette formule nous montre également que le tassement de la poudre influence aussi la vitesse d'écoulement. En effet, lorsque la poudre est fortement tassée, le volume interstitiel v' est plus faible et la vitesse de passage e est également plus faible. Dès lors, pour une même hauteur de colonne de poudre dans le percolateur la vitesse d'écoulement sera plus faible si cette poudre est fortement tassée.

Tout ceci nous permet d'ailleurs de comprendre pourquoi les résultats de BUCHI et FEINSTEIN sont différents de ceux de HERZOG qui, dans ses expériences, ne tenait pas compte de la hauteur de la colonne de drogue.

Seulement, dans cette formule, proposée en 1936 par BUCHI et FEINSTEIN, les valeurs de e et de v' ne sont pas encore connues pour toutes les drogues utilisées en thérapeutique et voici comment, dans la pratique, on peut opérer pour apprécier expérimentalement la meilleure vitesse d'écoulement. C'est d'ailleurs la technique utilisée par BUCHI et FEINSTEIN eux-mêmes dans leurs recherches sur le Quinquina.

Ces auteurs font quatre expériences dans les mêmes conditions, en employant respectivement, comme vitesse d'écoulement : 1, 10, 30 et 90 gouttes par minute, pour 500 grammes de poudre. Et les résultats obtenus leur montrent que les conditions les plus favorables se trouvent réalisées avec la vitesse de 30 gouttes par minute.

Pratiquement, cette vitesse corespond à peu près aux indications du Codex qui précise que l'on doit recueillir une fois

et demie environ le poids de la drogue en 24 heures. A vrai dire, dans ces conditions, l'écoulement est peut-être légèrement plus lent, et on pourrait modifier le texte du Codex en indiquant comme vitesse d'écoulement : une fois et demie à deux fois le poids de la drogue en 24 heures ; ainsi réaliserait-on les meilleures conditions. Et même, pour les premières parties du percolé dont la concentration est liée, comme nous l'avons vu, à une lente vitesse d'écoulement, il serait préférable de suivre strictement les données du Codex : ceci, en particulier pour la préparation des extraits fluides, afin d'entraîner la plus grande partie des substances solubles dans les premières parties de percolé, non soumises à une évaporation ultérieure.

Pour ces derniers d'ailleurs, le Codex indique de poursuivre l'opération jusqu'à « épuisement complet, ou, plutôt, jusqu'à ce que le dissolvant n'entraîne plus que des proportions insignifiantes de parties solubles ». Dans la pratique, on admet, avec WARIN, que la lixiviation est achevée lorsque 10^{cc} de ce percolé, évaporés à sec et ne laissant pas de résidu sensible, ne troublent pas l'eau dans le cas d'une drogue à résine ou ne précipitent pas par le réactif de MAYER, si c'est une drogue à alcaloïdes.

5° Déplacement du liquide extractif retenu dans le marc.

L'opération terminée, il reste encore une certaine quantité de liquide, retenue par absorption dans la masse de drogue. Cette absorption est due à la tension superficielle et le liquide ne peut s'écouler complètement. Ces phénomènes de tension capillaire sont plus faibles pour l'alcool que pour l'eau, et plus faibles également lorsque la pression est grande.

Il convient, dans l'industrie, de récupérer cette quantité de solvant.

CADET DE GASSICOURT (1816) indiquait que le liquide d'extraction peut être déplacé, sans mélange, par l'eau. GUILLERMOND (1835) affirme le contraire : en effet, la teneur alcoolique du liquide déplacé ne diminue pas brusquement, mais

progressivement, et par suite, le mélange des deux couches doit donc avoir lieu. BOULLAY (1833) déplace également le liquide extractif au moyen de l'eau, mais il reconnaît que les résultats sont incomplets dans la pratique. BUIGNET (1857) et ADRIAN (1862) confirment aussi l'opinion de GUILLERMOND. GARDNER (1905) constate bien une diffusion entre le liquide d'absorption et l'eau, lors du déplacement, mais il recommande tout de même l'emploi de l'eau pour récupérer le liquide absorbé. COTTON (1907) et RAUBENHEIMER (1910) considèrent à leur tour le déplacement comme possible. BREDDIN (1935) l'emploie également dans son processus de diacolation, TRUNKEL (1933) et VON BARI (1935) en sont aussi partisans.

BUCHI et FEINSTEIN, afin de se rendre compte de la valeur du déplacement, font des expériences sur des colonnes de sable qu'ils imprègnent d'un liquide extractif (liquide alcoolique) et sur lesquelles ils font agir l'eau. Ils notent alors le poids spécifique et la teneur en alcool et matières extractives des percolés obtenus. D'après eux, « un déplacement normal et total n'est pas possible, sans qu'il y ait mélange ».

Ce résultat, négatif pour le Quinquina, l'est aussi pour les autres drogues, car l'écorce de Quinquina n'offre aucune difficulté spéciale au passage de l'eau. De plus, le déplacement n'est pas applicable, en principe, aux substances qui se gonflent dans l'eau.

C'est donc un fait acquis désormais, que le déplacement du liquide extractif, par simple percolation au moyen de l'eau, ne donne que des résultats incomplets ; mais alors, il serait peut-être intéressant d'utiliser ce procédé, avec l'aide de la pression, puisque les phénomènes de tension capillaire, raison de l'absorption, sont plus faibles lorsque la pression s'élève.

* * *

En résumé, il résulte de ces quelques données sur la lixiviation, que les indications du Codex sont susceptibles, dans l'ensemble, de fournir de bons résultats.

Le percolateur d'abord, est simple et pratique, principales qualités requises comme nous l'avons vu. De plus, le formulaire légal prescrit, pour chaque drogue, un degré de finesse de la poudre et un solvant bien déterminés, conditions nécessaires à une bonne lixiviation.

Quant à la technique elle-même, il suffirait, pour la rendre excellente, de régler la durée de l'influx en faisant pénétrer le liquide goutte à goutte, et de réduire le temps de macération à douze heures seulement, temps qui s'avère suffisant dans tous les cas.

Le mode opératoire serait alors le suivant :

— dessiccation de la poudre, à l'étuve à 35°, pendant au moins 24 heures.

— humectation de la poudre pendant deux heures, avec la moitié de son poids de solvant.

— remplissage du percolateur, par portions, en nivelant chaque fois, par tapotements sur les parois de l'appareil et en pressant légèrement la couche supérieure, et pénétration du solvant goutte à goutte.

— macération de douze heures dans le percolateur.

— enfin, écoulement du percolé en recueillant une fois et demie environ le poids de la drogue en 24 heures. Nous avons d'ailleurs vu l'interprétation que l'on pouvait faire du mot « environ ».

De plus, dans l'industrie, il y aura intérêt à déplacer, par de l'eau, le liquide extractif restant dans la drogue, mais en s'aidant de la pression.

MÉTHODES ANNEXES.

A coté de la lixiviation, existent quelques méthodes annexes : les unes, comme la **repercolation**, ont pour but de réaliser une meilleure préparation des extraits fluides ; les autres assurent une économie de solvant, soit en utilisant un appareil spécial,

c'est le cas de la **diacolation**, soit en ralentissant l'écoulement du liquide, c'est l'**évacolation**.

La **repercolation**, préconisée par SQUIBB, était employée autrefois, sous le nom de lixiviation fractionnée, par les Codex américain et anglais pour la préparation des extraits fluides.

Le but de cette opération est d'obtenir une concentration importante en principes actifs dans les premières parties du percolé, afin d'éviter autant que possible l'altération de ces principes lors de l'évaporation des dernières parties du liquide écoulé.

Voici la technique suivie par MONNET (1879), technique identique à celle des pharmacopées américaine et anglaise : si on dispose de 500 grammes de poudre par exemple, on place dans trois percolateurs, respectivement 250, 150 et 100 grammes de poudre ; on verse le solvant dans le premier appareil, on met de côté les premières parties de liquide écoulé, et on continue l'opération jusqu'à épuisement complet, mais on se sert des percolés ainsi obtenus pour épuiser les 150 grammes de drogue contenus dans la deuxième appareil. On met encore de côté les premiers grammes de percolé recueillis, on achève l'opération et on épuise les 100 derniers grammes du troisième percolateur, avec le percolé du deuxième appareil. Les dernières portions de percolé sont alors évaporées à consistance d'extrait mou et dissoutes dans les premières parties de percolé, préalablement mises de côté. Le tout est porté à 500 grammes puisqu'on est parti de 500 grammes de poudre et que les extraits fluides correspondent à leur poids de drogue.

Par ce procédé, le solvant épuise, en somme, trois hauteurs de drogue. On a objecté alors que l'on pouvait obtenir les mêmes résultats avec le procédé ordinaire de lixiviation, mais il faudrait un appareil trois fois plus haut et on ne pourrait ainsi assurer une bonne marche de l'opération.

THOMPSON avait alors construit un percolateur sectionné dont les différentes parties s'adaptaient entr'elles. L'appareil fut sans doute trouvé trop compliqué et le procédé fut abandonné

jusqu'aux dernières recherches de BUCHI et FEINSTEIN (1936).

Ces auteurs perfectionnent encore la méthode puisque, en partant de 500 grammes de poudre, ils recueillent directement 500 grammes de percolé, sans avoir recours à une évaporation ultérieure. Ils reconnaissent cependant que leur procédé n'assure pas un épuisement complet de la drogue : on n'extraît, en effet, avec leur méthode, qu'un peu plus de la moitié des alcaloïdes contenus dans la poudre.

Si bien que la reperloration, sans évaporation, ne peut être envisagée pour la fabrication rationnelle des extraits fluides. Or, nous avons vu que le but de cette méthode était précisément d'éviter ou, en tout cas, de réduire au minimum l'évaporation, afin de ne pas altérer les principes actifs de la drogue.

La **diacolation** a surtout pour but l'économie du solvant.

Elle fut plus particulièrement étudiée par BREDDIN et nécessite l'emploi d'un appareil spécial, le diacolateur. Cet appareil se compose, le plus souvent, de neuf tuyaux, de 80 cm. de long et 17 mm de diamètre interne, reliés entr'eux par des tubes de verre courbés à angle droit, rattachés eux-mêmes par des soupapes. La masse de drogue est divisée en sept parties et demie.

Dans ces conditions expérimentales, réalisées par BUCHI et FEINSTEIN, 750 grammes de liquide devraient suffire, théoriquement, pour épuiser 500 grammes de poudre ; mais, après le passage dans le troisième tuyau, le diacolat est si épais qu'il ne peut plus être propulsé qu'à l'aide du vide. Le dernier tuyau même est bouché.

BUCHI et FEINSTEIN ont alors pensé que cet accident provenait de l'emploi d'une poudre trop fine, mais, avec une poudre grossière, ces auteurs n'ont pas obtenu de meilleurs résultats qu'avec la lixiviation ordinaire.

HUSA et HUYCK (1938) utilisent un appareil basé sur le même principe, mais le liquide extracteur est poussé, à travers la drogue, par de l'air comprimé.

Ce procédé paraît donc difficile à conserver dans la pratique car il nécessite l'emploi d'un appareil trop compliqué pour des résultats qui ne sont pas très favorables.

Enfin, l'**évacolation**, préconisée par KESSLER, consiste à réaliser un écoulement très lent du solvant sur la drogue, celle-ci étant disposée dans un tuyau cylindrique long et étroit.

Là encore, ce procédé ne permet pas d'obtenir, dans la pratique, de meilleurs résultats qu'avec la lixiviation ordinaire, tout au moins lorsqu'on emploie des poudres assez fines. Peut-être serait-il intéressant, pour l'utilisation des poudres grossières.

Ce procédé paraît donc, parmi les méthodes spéciales, le seul susceptible de fournir, éventuellement, quelques avantages ; en tout cas, son étude mériterait d'être reprise.

CHAPITRE IV

LIXIVIATION A CHAUD

Nous avons étudié jusqu'à présent, la lixiviation faite à la température ordinaire, 15 à 20°, sans nous occuper précisément de l'influence du facteur température.

C'est que la lixiviation à chaud ne fut employée pendant longtemps, dans les laboratoires, que pour le dosage de certaines substances, telle la poudre de cantharides, et cela, avec des liquides volatils : éther, alcool, benzine, éther acétique. Il fallait alors des appareils spéciaux en raison de l'extrême volatilité du solvant : ce sont les appareils à « extraction continue », type digesteur de PAYEN, dont nous avons donné une description sommaire.

Cependant BUIGNET (1875), puis WARIN (1901) indiquent qu'on obtient de meilleurs résultats, en employant l'alcool comme solvant, en opérant à 25° qu'en opérant à 60° par exemple ; mais ces auteurs n'augurent rien de ce qui peut se passer à des températures élevées.

Ce n'est qu'en 1909, qu'ASTRUC et CAPILLÉRY démontrent expérimentalement que l'industrie pharmaceutique aurait intérêt, dans certains cas, à utiliser la lixiviation à chaud pour préparer les extraits aqueux ; et en 1910, ASTRUC insiste à nouveau sur les avantages de la lixiviation à chaud et propose, dans ce but, un appareil connu depuis sous le nom de lixivateur ASTRUC.

D'ailleurs, déjà en 1906, ASTRUC et CAMBE avaient montré que la préparation du sirop de Baume de Tolu, par deux diges-

tions, pouvait être avantageusement remplacée par la méthode de déplacement au moyen de l'eau bouillante. On obtient en effet, par ce procédé, un soluté extractif qui, additionné d'une dose déterminée de sucre, donne un sirop dont les caractères organoleptiques et les réactions chimiques sont comparables à ceux du sirop préparé selon la technique du Codex. L'acidité totale est même supérieure d'une fois et quart, ce qui prouve une solution des principes plus complète puisqu'on apprécie la valeur de ce sirop par le dosage de l'acide cinnamique libre. En définitive, il y a donc rendement supérieur en principes dissous et aussi rapidité exceptionnelle de préparation.

CAPILLÉRY (1909) applique cette méthode de lixiviation à l'eau bouillante, utilisée par CAMBE, d'une part à la préparation des extraits aqueux du Codex de 1908 et, d'autre part, à celle de quelques sirops. Il opère, au début, comme pour la lixiviation à froid, mais, la substance une fois introduite dans le percolateur, il effectue la macération avec de l'eau bouillante et, après 24 heures, il verse à nouveau de l'eau bouillante par portions de 30 cc ; l'écoulement est alors réglé goutte à goutte. Il obtient, dans ces conditions, des résultats intéressants.

Mais, lorsque l'on utilise un percolateur ordinaire, il est nécessaire d'employer un écoulement assez rapide pour que l'eau n'ait pas le temps de refroidir avant d'avoir traversé toute la poudre. D'où l'intérêt du lixivateur ASTRUC qui permet, ainsi que nous l'avons vu, de maintenir l'eau à une température voisine de l'ébullition.

CAPILLÉRY (1910) utilise alors cet appareil pour la préparation de solutions extractives de quelques drogues à alcooloïdes (écorces de Quinquina, Grenadier, racine d'Ipéca, noix de Kola, feuilles de Thé) et il trouve ainsi des résultats nettement supérieurs à ceux de la lixiviation ordinaire.

La méthode de lixiviation à chaud présente donc des avantages incontestables, lorsqu'on utilise un véhicule *aqueux*. Et devant l'efficacité du procédé, nous avons songé à l'appliquer aux diverses préparations galéniques qui utilisent l'*alcool* com-

me véhicule et, en particulier, à l'obtention des extraits fluides et des teintures. Il nous fallait alors, dans ce cas, un appareil permettant, d'une part, d'éviter l'évaporation de l'alcool au cours de l'opération, d'autre part, d'obtenir, pendant plusieurs jours, une température rigoureusement constante puisque, d'après GORIS, les variations de température doivent être évitées au cours de la lixiviation. C'est ce qui explique les modifications que nous avons dues apporter au lixivateur ASTRUC.

D'ailleurs, la description de cet appareil ainsi que les résultats qu'il nous a permis d'obtenir, feront l'objet de la deuxième partie de nos recherches personnelles.

* * *

Ainsi donc, dans cette première partie, après avoir fait un bref historique de la lixiviation et après avoir exposé les diverses théories admises pour l'expliquer, nous nous sommes plus particulièrement attachée à l'étude du mode opératoire, envisageant successivement l'appareillage, la drogue, le solvant, et enfin la technique. Nous avons constaté alors, après la description, suivie d'une étude critique, des différents types d'appareil proposés jusqu'à ce jour, que le percolateur du Codex était susceptible, par sa forme comme par ses dimensions, de donner de bons résultats dans la pratique. Il en est de même des indications de ce formulaire légal, au sujet de la drogue et du solvant. Quant à la technique elle-même, la critique de ses diverses phases nous a permis de montrer, là encore, l'opportunité des prescriptions du Codex, avec quelques restrictions toutefois, au sujet de la durée de pénétration du liquide et de la durée de la macération dans le percolateur. On aurait intérêt en effet, d'une part, à verser le solvant goutte à goutte, d'autre part, à réduire le temps de macération dans le percolateur à douze heures seulement, et cela, dans tous les cas. On peut donc adopter, dans leur ensemble, les données du Codex sur la lixiviation.

Nous avons ensuite passé rapidement en revue certaines méthodes annexes, telles : la repercolation, la diacolation, l'évaco-

lation ; ces méthodes ne paraissent pas, du moins dans l'état actuel de nos connaissances, devoir fournir, dans la pratique, des résultats vraiment intéressants. Il n'en est pas de même, par contre, de la lixiviation à chaud dont l'intérêt est réel, en particulier lorsqu'on utilise le lixivateur ASTRUC. Nous nous servirons d'ailleurs de cette méthode, au cours de nos recherches personnelles, en adaptant l'appareil à la forme pharmaceutique que nous étudions.

DEUXIÈME PARTIE

APPLICATION A LA TEINTURE D'ACONIT

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LA PRÉPARATION DE LA TEINTURE D'ACONIT

A. HISTORIQUE DE LA PRÉPARATION DE LA TEINTURE D'ACONIT.

Avant d'exposer les résultats de nos recherches personnelles sur la teinture d'Aconit, il nous a paru indispensable de les justifier par un historique de la préparation de cette teinture, en France et à l'étranger, et d'examiner ensuite les méthodes de dosage utilisées.

I. En France.

La teinture d'Aconit a subi, depuis son inscription au Codex, de nombreuses variations qui ont porté sur la drogue, le solvant et le mode opératoire.

Cette teinture ne figure pas au formulaire légal de 1818, où l'Aconit n'est employé que sous la forme d'un extrait.

Celui de 1837 mentionne, par contre, trois « teintures », deux alcooliques et une éthérée. A vrai dire, une de ces « teintures alcooliques » recevrait aujourd'hui le nom d'*alcoolature* puisqu'elle est préparée par macération, à parties égales, de *feuilles fraîches* d'Aconit Napel et d'alcool à 34 deg. cart. (86 deg. centig.). La deuxième est obtenue, toujours par macération, de une partie de feuilles sèches dans quatre parties d'alcool à 21 deg. cart. (56 deg. centig.). Quant à la teinture éthé-

rée, au 1/4 également, elle s'obtient en traitant la poudre par l'éther, dans un entonnoir à déplacement.

Au Codex de 1866, les teintures d'Aconit sont supprimées : toutefois, celle obtenue, avec les feuilles fraîches subsiste mais sous la nouvelle appellation d'alcoolature.

La teinture fait alors sa réapparition avec le formulaire légal de 1884. Elle est toujours préparée par macération de poudre de feuilles d'Aconit Napel, mais avec de l'alcool à 60° ; de plus, elle est au 1/5.

Des modifications importantes furent encore apportées à la préparation de cette teinture, par le Codex de 1908, modifications demandées par la Conférence réunie à Bruxelles, en 1902, pour « l'unification de la formule des médicaments héroïques ». Celle-ci adopte, pour la préparation des teintures de drogues héroïques, la lixiviation au 1/10, avec de l'alcool à 70°.

Dans le cas de l'Aconit, elle recommande l'emploi exclusif du tubercule de l'année et l'Aconit utilisé doit être l'*Aconitum Napellus* L. Le Codex a suivi rigoureusement ces prescriptions et précise même de n'employer que « les tubercules lourds, fournis par la plante sauvage et récoltés avant la fin de la floraison ». Il fait donc une large part à l'influence de l'époque de la récolte, mise en évidence par ECALLE (1901), mais il fait intervenir aussi l'âge et la culture. MÉTIN (1925) devait ensuite montrer que l'on doit en plus tenir compte, pour les variations de l'activité de l'Aconit, des facteurs climatologique et géologique. Enfin, le Codex de 1908 ramène le titre de la teinture d'Aconit à une teneur de 0 gr. 50 °/100 (1) en alcaloïdes totaux, après un dosage à l'acide silicotungstique.

On pouvait espérer alors que la teinture d'Aconit allait être stable avec un titre et un mode opératoire bien déterminés ; et cependant le Codex de 1937 modifie encore sa préparation. Ces modifications portent sur le degré alcoolique, le mode opé-

(1) Il est à remarquer que ce titre de 0 gr. 50 °/100, admis dès à présent par la plupart des pharmacopées, n'était pas exigé par la conférence de 1902 et ne fut fixée que par la conférence internationale de 1925.

ratoire et le degré de finesse de la poudre, bien qu'il soit permis de se demander, si, pour ce dernier facteur, telle a bien été l'intention des rédacteurs de la dernière Pharmacopée. Nous avons déjà traité de ces questions dans un article publié en collaboration avec ASTRUC et GIROUX (1938), qui est une étude comparative des teintures d'Aconit des Codex de 1908 et de 1937, mais nous y reviendrons, en exposant et développant les résultats de nos recherches personnelles.

Pour ce qui est du degré alcoolique, désormais c'est l'alcool à 90° qui est prescrit à la place de l'alcool à 70°, pour la préparation de la teinture d'Aconit. Il semble que l'on ait voulu, autant que faire se peut, assurer une extraction plus complète des alcaloïdes et permettre une meilleure conservation du produit. Ceci résulte, en particulier, des travaux de HASKELL (1916) qui avait préconisé l'emploi d'un alcool de titre élevé pour ralentir l'altération des préparations d'Aconit. Après lui, GORIS et MÉTIN avaient montré, en 1925, que la diminution de toxicité de ces préparations, conséquence de l'hydrolyse de l'aconitine, est plus importante en solution aqueuse qu'en solution alcoolique.

Autre modification du Codex de 1937 : la lixiviation est réduite à l'obtention de 950 grammes de teinture et le dosage des alcaloïdes totaux est effectué à ce moment-là. Cette fois, le but du Codex est sans doute de réaliser une économie de temps et d'alcool. Nous avons déjà vu, en effet, que l'un des avantages de la lixiviation était l'économie d'alcool ainsi réalisée. Mais, dans le cas présent, pour obtenir une teinture au 1/10, il faudra utiliser, en raison de l'absorption au cours de l'opération, une quantité d'alcool égale à douze fois environ le poids de la drogue. Comme, d'autre part, les dernières portions de liquide écoulé sont très peu chargées en principes actifs, il y aurait intérêt, comme l'indique le dernier formulaire légal, à arrêter l'opération après l'obtention de 950 grammes de teinture.

Telles sont les modifications officielles et successives apportées, en France, à la préparation de la teinture d'Aconit.

II. A l'étranger.

A l'étranger, huit pharmacopées seulement ne mentionnent pas la teinture d'Aconit : ce sont les pharmacopées autrichienne, danoise, hollandaise, hongroise, norvégienne, portugaise, allemande et anglaise. Et encore, ces deux dernières ne l'ont-elles supprimée que dans leur nouvelle édition, en 1926 pour la pharmacopée allemande et en 1932 pour la pharmacopée britannique.

Les autres pharmacopées ont, en général, suivi les décisions de la Conférence de Bruxelles de 1902 préparant, comme nous l'avons indiqué, cette teinture par lixiviation au 1/10 à partir des tubercules pulvérisés d'*Aconitum Napellus* L. et avec l'alcool à 70°. Le titre, lorsqu'il est fixé, est de 0 gr. 50 °/100 d'alcaloïdes totaux.

Cependant, au Japon, on emploie encore la *macération* avec 10 parties d'alcool à 67°5-68°5, et. au Mexique, on la prépare par dilution au 1/10 de l'extrait fluide avec l'alcool à 70°. Deux formes sont inscrites à ce formulaire : l'une est une teinture de feuilles sèches titrant 0 gr. 20 °/100 d'alcaloïdes totaux, l'autre est une teinture de racines à 0 gr. 50 °/100.

Il faut noter également quelques autres particularités. Au point de vue de l'alcool tout d'abord : la pharmacopée russe emploie de l'alcool à 66°-68°5 ; la pharmacopée hollandaise laisse une marge de 69 à 71° ; celle des États-Unis utilise un alcool obtenu par le mélange de trois volumes d'alcool à 95° et un volume d'eau, c'est-à-dire approximativement 70°-71°. Quant à la lixiviation elle-même, elle est limitée, dans cette dernière pharmacopée, à l'obtention de 900 à 950 cc de teinture. Elle opère de même, d'ailleurs, pour toutes les teintures titrées et c'est, comme nous l'avons vu, le mode opératoire adopté par le Codex de 1937.

La pharmacopée suisse utilise encore une autre technique : elle prescrit d'employer dix parties d'alcool seulement, d'exprimer le marc, et de réunir le percolé et le liquide exprimé. On dose alors la teinture et on la ramène, approximativement, au

titre de 0 gr. 50 $\frac{0}{100}$ d'alcaloïdes totaux, cette pharmacopée admettant une tolérance de 0 gr. 45 à 0 gr. 55 $\frac{0}{100}$.

* * *

Nous voyons donc que, sous des modalités diverses, la teinture d'Aconit est largement utilisée et figure dans presque toutes les pharmacopées. En France, sa vogue est assez grande ; cependant il faut bien dire que cette drogue a été fortement critiquée en raison des différences d'activité, parfois considérables, qu'elle présente. Ceci explique les nombreuses vicissitudes par lesquelles est passée sa préparation. Ces variations ont porté sur la drogue, le solvant et le mode opératoire. Mais s'il est désormais bien établi que la teinture puisse toujours être préparée avec la *racine* d'Aconit, et par *lixiviation*, il reste à se demander si la marche de l'opération elle-même ne peut être modifiée et ce sera un des buts poursuivis dans ce travail. Il est alors indispensable, pour apprécier la valeur des teintures obtenues suivant divers procédés, d'avoir à sa disposition des méthodes précises de dosage. C'est à cette étude que nous allons nous attacher tout d'abord.

B. DOSAGE DE L'ACTIVITÉ DE LA TEINTURE D'ACONIT.

I. Dosage chimique.

Si la Conférence de Bruxelles de 1902, ainsi que nous l'avons indiqué, unifie la préparation des teintures de drogues héroïques, par contre, elle ne fixe le titre que de deux d'entr'elles : Noix Vomique et Opium. Il n'en est plus de même avec la Conférence de 1925 qui précise la teneur en principes actifs de la plupart des teintures (Aconit-Belladone-Cantharide-Colchique-Ipéca-Noix Vomique-Opium-Hydrastis) ; mais on peut regretter qu'elle n'indique pas de méthode de dosage bien déterminée. Elle spécifie simplement, pour l'Aconit, en particulier, que la teinture doit titrer 0 gr. 50 $\frac{0}{100}$ d'alcaloïdes « solubles dans

l'éther ». Aussi de nombreux travaux, ceux de JARVIS (1912) entr'autres, montrent des différences de résultats, dans la teneur en principes utiles de cette teinture, allant jusqu'à 30 % , selon le procédé employé.

Une étude rapide des méthodes de dosage appliquées à l'Aconit et employées dans diverses pharmacopées illustrera ces notions.

Le dosage chimique des principes utiles de l'Aconit utilise, soit des méthodes volumétriques, soit des méthodes gravimétriques. Il est exprimé en aconitine, pour laquelle on adopte la formule suivante $C^{37} H^{47} NO^{11}$, ce qui donne un poids moléculaire de 645.

Méthodes volumétriques.

Les diverses techniques de dosage volumétrique reposent toutes sur le même principe : *les alcaloïdes, déplacés par une base, sont dissous dans un solvant neutre qui est ensuite évaporé. Le résidu est repris à nouveau par le dissolvant et on y dose l'alcaloïde par un acide titré en présence d'un indicateur coloré.*

Le meilleur procédé, semble-t-il, est celui de PANCHAUD (1903), qui perfectionne en quelque sorte la technique appliquée par STOEDER (1901) aux extraits d'Aconit, Belladone et Jusquiame. L'auteur déplace les alcaloïdes par l'ammoniaque et les reprend par un mélange éther-chloroforme. La particularité consiste à traiter le résidu par de l'alcool. Il ajoute ensuite un peu d'eau et d'éther, et titre par l'acide chlorhydrique en présence d'hématoxylène.

Ce procédé a été adopté par les pharmacopées russe et suisse, mais ces dernières utilisent l'éther seul comme solvant.

Cette méthode, plus ou moins modifiée, est aussi la méthode officielle en Belgique, Roumanie et Hollande. Les pharmacopées belge (1930) et roumaine (1936) emploient, toutes deux, l'iodéosine comme indicateur, mais la première déplace les alcaloïdes par du carbonate neutre de sodium et les reprend par l'éther, alors que la deuxième utilise la soude et un mélange

éthéro-chloroformique. Quant à la pharmacopée hollandaise (1926), elle ne purifie pas les alcaloïdes et les dose directement en présence de rouge de méthyle. Et cependant, d'après DE MYTTENAERE (1908), on obtiendrait, par cette méthode, des résultats plus précis que par le dosage du formulaire belge.

Méthodes gravimétriques.

Parmi les diverses pharmacopées, trois seulement utilisent le dosage gravimétrique : ce sont les pharmacopées italienne, mexicaine et française.

Le dosage gravimétrique fut appliqué, pour la première fois à l'Aconit par KELLER, en 1896. Cet auteur déplace les alcaloïdes par un alcali en présence d'éther ou d'éther-chloroforme ; il décante la solution éthérée, agite avec un acide. La solution acide est alors saturée par l'ammoniaque et les alcaloïdes, mis en liberté, sont repris par l'éther ou le mélange éthéro-chloroformique. On évapore et on pèse.

La pharmacopée italienne (1920) complique inutilement ce procédé en distillant la première quantité du mélange éthéro-chloroformique employé et en ajoutant les $\frac{3}{4}$ du distillat ainsi obtenu à la solution acide avant de traiter à nouveau par l'ammoniaque et le mélange éthéro-chloroformique. Quant à la pharmacopée mexicaine (1925), elle n'effectue aucune purification des alcaloïdes.

Le dosage indiqué par notre Codex est un peu spécial, en ce sens que ce ne sont plus les alcaloïdes que l'on pèse, à l'état de pureté plus ou moins grande, mais un précipité d'anhydride silicotungstique, provenant de la calcination du silicotungstate d'alcaloïdes ; le précipité étant plus abondant, l'erreur relative est plus faible. C'est ce procédé que nous avons utilisé, au cours de nos recherches, avec quelques modifications.

Le principe de cette méthode, dont le mérite revient à G. BERTRAND (1899) est le suivant : les alcaloïdes sont mis en solution nitrique (ceci, dans le cas particulier de l'Aconit car, habituellement, on emploie l'acide chlorhydrique) ; on ajoute une

solution d'acide silicotungstique à 5 % (réactif de BERTRAND), on porte à l'ébullition (1), on laisse en repos 24 heures, on filtre et on lave à l'eau distillée ou acidulée. Enfin, on sèche et on calcine le précipité de silicotungstate d'alcaloïdes. Du poids de l'anhydride silicotungstique 12 TuO_3 . Si O_2 , ainsi obtenu, on déduit la quantité d'alcaloïdes. Il suffit de multiplier le poids trouvé par un coefficient déterminé. Celui de 0,793, adopté par le Codex de 1908, a été préconisé par ECALLE (1901) et confirmé par les travaux de RIBAUT (1910). Il a été calculé en prenant 645 comme poids moléculaire de l'aconitine (2).

Mais en 1922, dans le laboratoire de Pharmacie galénique de notre Faculté de Montpellier, le dosage officinal de l'Aconit est étudié de très près. Le dosage des alcaloïdes, mis au point, a été publié par ASTRUC, CANALS et BORDIER (1922) et la thèse de doctorat en pharmacie de BORDIER (1922) le développa largement dans tous ses détails opératoires. Nous retiendrons ce travail et en adopterons les conclusions, puisque nous utiliserons la méthode des auteurs ci-dessus, légèrement modifiée, concurremment d'ailleurs à une méthode physiologique, pour apprécier l'activité des différentes teintures que nous avons préparées.

La question du réactif est d'abord précisée. LEFEVRE (1912) reconnaissait déjà qu'« une bonne précaution consiste à préparer soi-même l'acide silicotungstique ». BORDIER constate que l'acide silicotungstique qu'il avait au laboratoire, précipitait, à l'ébullition, avec l'acide nitrique : le précipité obtenu correspondait à 1 gr. 086 d'alcaloïdes pour 100 grammes de poudre. Il prépare alors l'acide silicotungstique selon le mode opératoire indiqué par WYROUBOFF (1896) qui complète les instructions de MARIGNAC (1864). Et il n'obtient plus alors de précipité de son produit ni par l'acide nitrique, ni par l'acide chlorhydrique. BORDIER conclut d'ailleurs qu'il n'est pas utile de préparer soi-

(1) G. Bertrand divise les alcaloïdes en deux groupes, selon qu'ils donnent, avant et après chauffage, un précipité d'égale ou d'inégale intensité.

(2) La pharmacopée anglaise, seule, adoptait une formule un peu différente pour l'aconitine: $\text{C}^{34} \text{H}^{45} \text{NO}^{11}$ au lieu de $\text{C}^{34} \text{H}^{47} \text{NO}^{11}$, ce qui donnait 643 comme poids moléculaire.

même l'acide silicotungstique mais qu'il est bon de vérifier la valeur du produit commercial employé : celui-ci ne devra pas précipiter par l'acide chlorhydrique ou nitrique, même à commencement d'ébullition. C'est ce que nous avons fait.

L'auteur modifie ensuite le mode opératoire de la façon suivante.

1^o Il augmente la quantité d'éther mise en œuvre pour reprendre les alcaloïdes. C'est ainsi qu'il emploie deux fois 50 cc d'éther après les 300 cc exigés par le Codex. Il vérifie ensuite qu'une partie aliquote de cet éther, évaporée et reprise par quelques cc d'eau chlorhydrique, ne précipite pas par le réactif de MAYER.

2^o Il agite davantage et d'une façon bien déterminée : 50 fortes secousses chaque fois, dont 5 en 10 minutes.

3^o Il filtre les eaux de lavage de l'éther.

4^o Il filtre, au moins deux fois sur le même filtre, le liquide contenant le précipité de silicotungstate car celui-ci, très ténu, passe après une première filtration.

Il obtient, par ce procédé, des résultats très satisfaisants, comparables entr'eux, mais présentant une grande différence avec ceux obtenus en suivant la technique du Codex. Pour un même Aconit, il trouve 0 gr. 253 d'alcaloïdes pour 100 grammes de poudre en suivant le procédé du Codex et 0 gr. 340 d'après sa technique.

BORDIER a eu, de plus, le mérite d'appliquer à la poudre le dosage indiqué par le Codex pour l'extrait.

La méthode du Codex, considérée jusque-là comme la plus pratique, devenait aussi la plus précise après les modifications sur lesquelles nous venons d'insister.

Cependant, MÉTIN, en 1925, constate que le lavage à l'eau distillée dissocie légèrement le précipité de silicotungstate et donne une erreur par défaut de 10/100 environ. Aussi propose-t-il de laver le précipité avec de l'eau nitrique (NO^3H à 36 °/100), jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus une solution acide de chlorhydrate de quinine, par exemple. Cette der-

nière modification a été d'ailleurs adoptée par le Codex de 1937 (1) qui, par contre, et nous le regrettons, n'a pas jugé devoir tenir compte des précisions apportées par les auteurs montpelliérains.

Il est vrai que ces modifications rendent le procédé un peu long et délicat ; cette critique a été exprimée par GIRAULT, en 1934, lequel essaya alors la méthode de IONESCO-MATIU (1928). Cette dernière est basée sur la précipitation des alcaloïdes par le réactif mercurimétrique de Denigès, la dissolution du précipité par le mélange sulfo-nitrique et la titration de l'ion mercurique par l'ion chlore suivant la technique de VOTOCEK et KAS-PAREK (1923). Mais il reconnaît que le procédé à l'acide silico-tungstique est plus précis.

La dernière édition du Codex apporte une autre modification au dosage : on déplace d'abord les alcaloïdes par l'ammoniaque diluée en présence d'éther et on laisse le tout en contact deux heures en agitant. On filtre, on traite par l'acide nitrique et on continue comme précédemment. L'édition de 1908, au contraire, prescrivait de traiter tout d'abord par l'acide nitrique et de n'ajouter l'ammoniaque qu'ensuite. Le dosage actuel s'appliquant aussi à la poudre, on a voulu ainsi éviter, vraisemblablement, l'émulsion de l'éther avec la poudre et l'eau ammoniacale, difficulté déjà signalée par Bordier.

La variation du coefficient, qui est désormais de 0,794 au lieu de 0,793, n'a qu'une importance secondaire, puisque les différences de résultats avec le précédent ne portent que sur les dixièmes de milligramme.

Les procédés de dosage que nous venons d'envisager sont loin d'avoir la même valeur.

Les *méthodes volumétriques* ne fournissent pas de résultats concordants. JARVIS (1912) trouve, pour une même teinture, 0 gr. 042 ⁰/₁₀ d'alcaloïdes d'après le procédé belge et 0 gr. 054 ⁰/₁₀ avec la technique suisse.

(1) Celui-ci remplace simplement la solution de chlorhydrate de quinine par une solution d'azotate d'aconitine.

Cette différence provient sans doute de la base (CO^3Na^2) employée par la pharmacopée belge ; d'après cet auteur, il vaut mieux utiliser l'ammoniaque qu'un alcali fixe car une trace en excès de ce dernier suffit à fausser les résultats.

Il semble cependant que ce soit encore la nature du solvant qui joue le plus grand rôle. Ainsi, la méthode de PANCHAUD, recommandée par CAESAR et LORETZ (1905), STEVENS (1911), AUENMULLER (1920) donne des différences notables selon que l'on emploie comme solvant l'éther seul ou le mélange éthéro-chloroformique. STEVENS, par exemple, dosant une teinture d'Aconit par ce procédé, trouve 0 gr. 375 $\frac{0}{100}$ d'alcaloïdes s'il utilise l'éther et 0 gr. 516 $\frac{0}{100}$ s'il emploie le mélange éthéro-chloroformique. On peut expliquer cette particularité de la façon suivante : nous avons déjà indiqué que l'on ramène actuellement le « bloc alcaloïdique » de l'Aconit aux trois alcaloïdes : aconitine ou acétylbenzoylaconine, benzoylaconine et aconine. Or, dans l'extraction des alcaloïdes par l'éther en vue du dosage, l'aconine passe partiellement en solution lorsqu'elle est associée aux autres alcaloïdes, alors que, seule, elle y est complètement insoluble. Cette solubilité varie encore dans le mélange éthéro-chloroformique. Dès lors, il n'est pas indifférent d'employer tel ou tel solvant puisqu'on peut obtenir, suivant le cas, des résultats variant du simple au double. Il faudrait, pour avoir des résultats comparables, opérer toujours dans les mêmes conditions de base, de solvant et d'indicateur.

Parmi les *méthodes gravimétriques*, celles utilisant la pesée directe des alcaloïdes, comme le pratiquent les pharmacopées italienne et mexicaine, ne sont pas à retenir, le coefficient d'erreur étant trop élevé. JARVIS a trouvé, en effet, une teneur en alcaloïdes totaux de 0 gr. 039 $\frac{0}{100}$ d'après la méthode italienne et de 0 gr. 050 $\frac{0}{100}$ environ avec celle du Codex ou de la pharmacopée suisse.

Nous avons estimé que le dosage du Codex, tel qu'il a été exposé par BORDIER, est le seul susceptible de donner des résultats rigoureusement *exacts*, à condition de tenir compte de

l'observation de MÉTIN, c'est-à-dire de laver le précipité à l'eau nitrique. C'est la technique que nous avons suivie au cours de nos recherches.

Cependant cette méthode, si précise soit-elle, ne nous donne que le bloc alcaloïdique « *soluble dans l'éther* » et se révèle incapable de nous fixer sur la teneur exacte en aconitine. Or, nous avons déjà vu que, parmi les trois alcaloïdes de l'Aconit, la benzoylaconine et l'aconine sont des produits dont la toxicité est beaucoup plus faible que celle de l'aconitine. Ces données furent confirmées d'une façon incontestable, par les travaux de DOHME (1921), puis ceux de SWANSON et WALTERS (1923).

Dans ces conditions, seul, un dosage physiologique paraît susceptible de nous renseigner sur l'activité réelle d'une préparation d'Aconit.

II. Dosage physiologique.

Le dosage physiologique des préparations d'Aconit a été étudié tout spécialement en Amérique. En France, GORIS et ses élèves ont largement contribué à en montrer la nécessité. Ce dosage physiologique trouve sa justification, comme nous l'avons vu, non seulement en raison de l'imprécision de la méthode chimique, en raison également des variations de la teneur en principes actifs de la drogue, mais encore par suite de l'altération de ces principes au cours de la préparation de la teinture ou pendant la conservation de cette forme pharmaceutique.

Cette inconstance de l'activité de l'Aconit était connue depuis longtemps, puisque déjà LABORDE, en 1876, classe les Aconits de diverses provenances suivant leurs effets toxiques, expérimentés sur le chien. Et ce point particulier a son intérêt car LABORDE (1) est, en somme, un des premiers, sinon le premier, à s'être servi du dosage physiologique pour apprécier la valeur d'un Aconit. Il admet ainsi que l'activité suit un ordre

(1) Il est bien évident que l'expérimentation physiologique de l'Aconit est beaucoup plus ancienne. Les vertus de cette drogue étaient, en effet, connues dès l'époque romaine et chacun sait que la seule méthode utilisée à cette époque pour connaître la valeur thérapeutique ou toxique d'une plante était l'expérimentation physiologique sur l'animal ou... sur l'esclave.

croissant de l'Aconit de Suisse à celui des Vosges, en passant par ceux du Dauphiné et des Pyrénées. PROCTOR, à son tour, signale la différence de teneur en alcaloïdes des Aconits de France et d'Amérique. Après lui, KELLER, en 1894, note également de grandes variations de teneur en alcaloïdes totaux, dans les tubercules et les feuilles d'Aconit. Ces remarques furent encore faites par ECALLE (1901), CHEVALLIER (1905), BURMANN (1912). DÉJEAN qui fit, en 1909, une étude comparative des teintures et alcoolatures de quelques drogues héroïques, entr'autres de l'Aconit, aboutit aux mêmes conclusions. Mais c'est surtout MÉTIN (1925) qui étudia systématiquement les variations de la teneur alcaloïdique de l'*Aconitum Napellus* L. en fonction de l'origine, de la variété, de la culture, de l'âge et de l'altitude. D'après cet auteur, les deux facteurs les plus importants seraient les facteurs climatologique et géologique. Il employa, pour préciser ces données, le dosage physiologique et obtint des résultats qui ne firent que confirmer les précédents : en effet, une teinture préparée avec un Aconit pyrénéen titrant 0 gr. 55 % d'alcaloïdes totaux est environ cent fois plus active sur le cobaye qu'une teinture obtenue avec un Aconit des marais de l'Aisne et titrant 1 gr. 335 %. Or, si les variations de la composition chimique et, par corollaire, de l'activité d'un végétal avec l'habitat, le climat et le sol, sont bien connus de nos jours, il est évident que, dans le cas de l'Aconit, elles sont vraiment considérables. Ceci tient essentiellement, comme nous l'avons déjà vu, à la constitution alcaloïdique de ce végétal : en effet, à côté de l'aconitine, base active, se trouvent la benzoylaconine et l'aconine, respectivement 4 à 500 fois et 5.000 fois moins actives que l'aconitine, d'après SWANSON (1924), de sorte que la toxicité et partant l'activité d'un Aconit sont en rapport surtout avec la quantité d'aconitine.

De plus, non seulement ces bases se trouvent en proportions différentes dans la plante, mais encore, au cours de la préparation ou de la conservation, l'aconitine peut se dédoubler en benzoylaconine et même en aconine. Cette hydrolyse de l'aco-

nitine, conduisant à des produits moins actifs, constatée par ALDER WRIGHT en 1877, fut étudiée ensuite par MANDELIN (1885), DUNSTAN (1892), FREUND et BECK (1894). Ces données furent précisées encore par SWANSON et WALTERS (1923), GORIS et MÉTIN (1925), HAAG et HAWKINS (1930). GORIS et MÉTIN signalent d'ailleurs que cette hydrolyse, qui suit une marche régulière avec le temps, est plus importante en solution aqueuse qu'en solution alcoolique, et cette observation justifie l'étude comparative que nous avons effectuée, de la teinture préparée avec l'alcool à 70° et de celle obtenue avec l'alcool à 90°.

Il semble cependant que le temps ne soit pas le seul facteur de l'hydrolyse de l'aconitine. TAYLOR remarquait déjà, en 1909, qu'un extrait fluide, chauffé deux heures à 100°, perdait 12° /o de son activité. BERNÉGAU (1909) incrimine également les préparations du type extrait et trouve qu'elles sont plus altérées, par suite du chauffage, que les teintures. Mme MALMANCHE (1929) précise également que l'altération des solutions d'aconitine est plutôt le résultat d'une « pyrolyse » que d'une hydrolyse.

Il résulte de tout ceci qu'il est indispensable, pour apprécier l'activité réelle d'une préparation d'Aconit, d'en effectuer le dosage non seulement par une méthode chimique, mais encore par un procédé physiologique.

Le mérite de l'utilisation de cette méthode physiologique revient d'ailleurs aux Américains. C'est en effet, LYONS qui, le premier, en 1886, signale l'insuffisance de l'essai chimique appliqué aux préparations d'Aconit et qui, en 1908, demande que l'on adopte la méthode physiologique comme étant la seule capable de nous renseigner, d'une façon exacte, sur l'activité de l'Aconit. SCOVILLE, en 1910, propose un essai basé sur le picotement de la langue et GITHIENS et VANDERKLEED, la même année, donnent les doses minima mortelles des diverses préparations d'Aconit, pour un poids déterminé de cobaye. Aux États-Unis toujours, ROTH (1913), FORD et WINE (1915), HAS-

KELL et ZIRKLE (1915), HASKELL et THOMAS (1916) préconisent tous l'essai physiologique.

A la suite de ces travaux, la 9^{me} édition de la pharmacopée des Etats-Unis, édition de 1916, applique l'essai physiologique au dosage de l'extrait fluide, de la teinture et de l'extrait d'Aconit. Les préparations sont injectées par voie sous-cutanée à des cobayes de 250 à 350 grammes qui sont examinés au bout de douze heures. Toutefois, cette pharmacopée maintient encore le dosage chimique.

DOHME en 1921, SWANSON et WALTERS en 1923, insistent à leur tour sur l'imprécision du dosage chimique si bien que la dernière édition de la pharmacopée américaine, celle de 1926, le supprime et conserve seulement l'essai physiologique. Il en est de même en Espagne en 1930.

En France, les travaux de GORIS et Mme MALMANCHE (1929), succédant à ceux de MÉTIN (1925) sur les variations de la teneur alcaloïdique de l'Aconit, ont apporté un nouvel intérêt à la question. Dans sa thèse sur « les dosages chimiques et physiologiques des préparations d'Aconit », Mme MALMANCHE fait une étude critique des divers modes de dosage physiologique. L'auteur passe en revue, tout d'abord, les méthodes basées sur la réaction d'un tissu animal vivant, telle la méthode de SQUIBB, qui utilise la réaction de picotement provoquée par l'aconitine sur la langue et les lèvres ; telle encore l'observation des variations de la pression sanguine sur le chien et l'action sur le cœur isolé de grenouille ; aucune de ces méthodes, d'après Mme MALMANCHE, ne peut être retenue pour l'étalonnage physiologique.

Parmi les méthodes de détermination de la dose minima mortelle pour un animal donné, qu'elle examine ensuite, la seule qui, pour l'auteur, présente de réels avantages est celle au cobaye, les autres (chat, chien, grenouille) étant assez infidèles. L'emploi de la souris blanche, proposé par MUNCH et GITTINGER en 1929, semblait intéressant, étant donné l'élevage facile et le faible prix de revient, si les variations de la susceptibilité indivi-

duelle étaient moins importantes. Nous nous rallierons donc, avec Mme MALMANCHE, à l'emploi de la dose minima mortelle pour le cobaye, cette méthode étant à la fois suffisamment sensible et constante.

Mais, avant d'indiquer la technique suivie au cours de nos expériences, il importe de choisir un mode rationnel pour exprimer nos résultats : plusieurs moyens s'offraient, en effet, à notre choix.

C'est ainsi que la pharmacopée des Etats-Unis indique le volume de teinture au 1/10, mortel pour un gramme de cobaye. GITHIENS et VANDERKLEED, par contre, comptent le nombre d'unités toxiques par cc ou gramme de teinture, en prenant comme unité, la quantité d'aconitine nécessaire pour tuer un gramme de cobaye. Ces deux façons d'exprimer les résultats présentent des difficultés pratiques pour leur calcul, aussi avons-nous préféré, là encore, suivre les données de Mme MALMANCHE, qui ne sont autres que celles de GORIS et MÉTIN, et calculer, avec elle, l'unité toxique en centième de millième de milligramme par gramme de cobaye. Par une série d'expériences, cet auteur a montré que la dose minima mortelle (D. M. M) était, pour l'aconitine base, normalement, de 7 unités, ce qui, d'après ses conventions, revient à dire qu'une dose d'aconitine de 0 gr. 000.000.07 par gramme de cobaye est mortelle pour cet animal. Cependant, Mme MALMANCHE admet que, dans la pratique, il ne faut pas être trop absolu et que, dans le cas particulier de la teinture, on peut adopter 9 unités comme D. M. M.

L'idéal serait alors d'opérer sur des animaux de la même souche, du même âge, approximativement du même poids, ayant le même sexe et nourris de la même façon. Tous ces facteurs ont, en effet, leur importance, d'ailleurs inégale, pour la détermination de la dose minima mortelle.

L'âge de l'animal est à considérer. Les cobayes jeunes sont moins résistants ; aussi est-il préférable de n'employer que des animaux adultes c'est-à-dire, dans la pratique, pesant au moins 200 à 250 grammes.

Cet état de développement atteint, le poids joue un rôle moins important que celui auquel on pourrait s'attendre. Nous avons été surprise, en effet, de constater que la pharmacopée des Etats-Unis prescrivait l'emploi de cobayes pesant de 250 à 300 grammes alors que Mme MALMANCHE les utilisait de 4 à 500 grammes. Nous avons fait alors une expérience sur deux lots de quatre cobayes chacun : les cobayes du premier lot pesant 200 grammes environ, ceux du deuxième, 600 grammes. Chacun d'eux reçut, proportionnellement, la même quantité de teinture d'Aconit : tous sont morts ; mais alors qu'il a fallu quatre heures environ pour les plus gros, deux heures ont suffi pour les autres. Néanmoins, de façon à opérer dans des conditions toujours identiques, nous avons, par la suite, constamment employé des cobayes de 4 à 500 grammes.

Le sexe, lui non plus, n'est pas indifférent. En 1916, HASKELL et THOMAS avaient déjà constaté, sur le chat, cette influence très nette du sexe quant à la résistance à l'action toxique. Ces notions ont d'ailleurs été confirmées depuis et nous avons été amenée, au cours de nos expériences, à constater que les cobayes mâles étaient plus résistants que les cobayes femelles à la teinture d'Aconit, mais la différence n'est pas suffisante pour supprimer complètement l'emploi de ces dernières. Nous avons fait en sorte, simplement, de les répartir régulièrement dans les lots d'animaux.

Quant aux variations saisonnières notées, entr'autres, par HUNT (1915). puis par HASKELL (1916), elles ne furent pas confirmées, pour la teinture d'Aconit, par Mme MALMANCHE ; cet auteur ne constate pas de grandes variations de la D. M. M. aux différentes époques de l'année. Personnellement, si elles existent, elles nous ont paru en tout cas très faibles, du moins dans les expériences présentes.

Il ne faut pas oublier enfin, l'influence de la nourriture sur les conditions de résistance d'un animal. SWANSON insiste (1924) particulièrement sur ce point, aussi tous nos animaux étaient-

ils soumis huit jours avant l'expérience au même régime et laissés à la diète 24 heures avant l'injection.

Enfin, n'ayant pu nous procurer des animaux de souche pure, nous avons obvié à cet inconvénient, en opérant sur un très grand nombre d'individus, de façon à compenser, par une moyenne de résultats, les variations dues au facteur physiologique.

Technique.

Voici maintenant la technique suivie, au cours de nos expériences, pour doser l'activité des différentes teintures étudiées.

La teinture, dosée chimiquement suivant le procédé choisi et que nous avons décrit précédemment, est ramenée au titre de 0 gr. 50 $\frac{0}{100}$ d'alcaloïdes totaux, conformément aux prescriptions du Codex. On suppose alors que les alcaloïdes sont constitués uniquement par de l'aconitine et on calcule la quantité de teinture à injecter, correspondant à 9 unités (1) par gramme d'animal. La teinture est ensuite diluée dans une quantité connue, toujours la même, de soluté isotonique de chlorure de sodium et l'injection est faite sous la peau de la région abdominale.

Le calcul de la quantité de teinture à injecter est relativement simple, malgré les apparences. On commence par chercher, en tenant compte du poids de l'animal, quelle est la quantité minima mortelle d'aconitine nécessaire.

Soit, pour un cobaye de 450 grammes :

$$0 \text{ gr. } 000.000.09 \times 450 = 0 \text{ gr. } 0000405 \text{ d'aconitine.}$$

Puisque la teinture préparée avec l'alcool à 70° donne 57 gouttes au gramme, 0 gr. 50 d'alcaloïdes seront contenus dans 57.000 gouttes, et il faudra, par suite, pour tuer un cobaye de 450 grammes :

$$\frac{57.000 \times 0,0000405}{0,5} = 4 \text{ gouttes, 6 de teinture}$$

(1) Nous avons déjà vu que l'on adopte 9 unités comme D. M. M. de la teinture.

Mais on ne peut mesurer, d'une façon précise, 4,6 gouttes, aussi faut-il calculer à quelle quantité d'aconitine et à combien d'unités correspondent respectivement 4 et 5 gouttes.

4 gouttes représentent :

$$\frac{0,50 \times 4}{57.000} = 0 \text{ gr. } 000035 \text{ d'aconitine}$$

et 5 gouttes :

$$\frac{0,50 \times 5}{57.000} = 0 \text{ gr. } 000043$$

Nous voyons que la quantité d'aconitine contenue dans 5 gouttes de teinture (0 gr. 000043) est plus proche de la quantité à injecter (0 gr. 0000405) que celle contenue dans 4 gouttes (0 gr. 000035). On injectera donc 5 gouttes ce qui correspond à 9,7 unités. (1)

La mort doit se produire en l'espace de six heures. Si la dose n'est pas suffisante, on l'augmentera progressivement de deux unités en deux unités, jusqu'à ce que l'on obtienne le décès d'un animal. Mais, pour avoir des résultats satisfaisants, il faut opérer, comme l'indique d'ailleurs la pharmacopée des Etats-Unis, sur un lot de trois cobayes et obtenir un minimum de deux morts sur trois ; ceci, afin d'exclure les variations de résistance individuelle des animaux mis en expérience.

Dans toutes nos expériences, les premiers symptômes se sont produits régulièrement vingt minutes après l'injection (2). L'animal mâchonne, bave, puis allonge brusquement la tête en avant et effectue un salut, accompagné d'un cri particulier « couac » : c'est le hoquet caractéristique de l'intoxication par l'aconitine. Il y a, en général, émission d'urine et de selles. On

(1) Il est bien évident que, pour une teinture préparée avec l'alcool à 90°, il faut tenir compte, dans les calculs, du fait que cette teinture ne donne plus 57 gouttes mais 61 gouttes au gramme.

(2) Mme Malmanche décrit l'apparition des premiers symptômes, dix minutes après l'injection, mais il est à remarquer qu'elle opérait avec l'aconitine et non avec la teinture. Cet auteur fait d'ailleurs une étude détaillée de l'intoxication produite par l'aconitine, la benzoylaconine et l'aconine.

constate ensuite la paralysie des pattes postérieures. L'animal continue à mâchonner et les hoquets persistent jusqu'à la mort. Tels sont les symptômes constants que nous avons observés, dans le cas d'intoxication par la teinture d'Aconit.

* * *

Ainsi donc, après avoir suivi les vicissitudes de la teinture d'Aconit en France et à l'étranger, et après avoir fait une revue des méthodes de dosage de l'activité de cette teinture, nous avons choisi les techniques chimique et physiologique de dosage, qui nous ont paru les meilleures à suivre au cours de nos recherches. C'est ainsi que nous avons adopté la méthode gravimétrique du Codex, en tenant compte des modifications sur lesquelles nous avons longuement insisté. Nous avons estimé ensuite qu'il était indispensable de compléter ce dosage chimique par un dosage physiologique, basé sur la détermination de la dose minima mortelle pour le cobaye, si l'on veut avoir une notion exacte de l'activité du médicament considéré, et nous avons décrit en détail la technique à utiliser.

CHAPITRE DEUXIÈME

RECHERCHES PERSONNELLES

A. COMPARAISON DES TEINTURES DES CODEX DE 1908 ET DE 1937.

Ayant ainsi précisé les notions nous permettant d'apprécier l'activité réelle d'une préparation d'Aconit, nous nous proposons maintenant de faire une étude critique des modifications apportées par le dernier formulaire au mode d'obtention de la teinture d'Aconit et de déterminer les constantes de la nouvelle teinture. Nous appliquerons ensuite le procédé de lixiviation à chaud, tel que nous le préconisons, à la préparation de la teinture d'Aconit, envisageant l'intérêt de cette méthode pour l'industrie.

I. Modifications du Codex de 1937.

Nous avons déjà signalé que les modifications du Codex de 1937, au sujet de la préparation de la teinture d'Aconit, portent sur trois points :

- 1 - Degré de finesse de la poudre.
- 2 - Degré alcoolique.
- 3 - Conduite de la lixiviation.

1 - *Degré de finesse de la poudre.*

Le Codex de 1908 prescrivait l'emploi d'une poudre demi-fine, passant au tamis 15. Celui de 1937 indique toujours *poudre demi-fine*, mais il accompagne cette désignation du numéro de tamis 24. Or, le tamis module 24 du dernier Codex est l'é-

quivalent du tamis numéro 30 de l'ancienne nomenclature et, dans les deux cas, à ces numéros correspond une *poudre fine*.

De plus, les poudres de drogues héroïques servant à la préparation des teintures, spécifiées autrefois poudres demi-fines (Belladone, Jusquiame, Ipéca, Lobélie), ont gardé la même désignation, mais précisée par l'indication du tamis module 26 (Codex 1937), qui lui correspond bien.

L'emploi d'une poudre aussi fine ne paraît d'ailleurs présenter aucun intérêt pratique. Bien au contraire, le conduite de l'opération se révèle beaucoup plus délicate et il est impossible d'obtenir, avec une telle poudre, un écoulement régulier : la trop grande ténuité de la drogue freine l'écoulement du solvant en augmentant l'absorption et la capillarité, si bien qu'il est très difficile d'éviter le colmatage de la poudre. Et si de telles difficultés se présentent déjà au laboratoire, où l'on emploie des quantités relativement faibles de poudre, 50 ou 100 grammes, à plus forte raison existeront-elles, encore plus considérables, dans l'industrie, où l'on opère sur des kilogrammes de substance.

Il faut remarquer cependant que, si un degré de finesse assez poussé n'est pas utile à une bonne lixiviation, il n'en est plus de même lorsqu'il s'agit du dosage des alcaloïdes dans la poudre. En effet, si BORDIER a montré que l'on obtient la même quantité d'alcaloïdes, quelle que soit la grosseur de la poudre employée, en revanche, la quantité d'éther nécessaire pour un épuisement complet varie : elle est d'autant plus faible que la poudre est plus fine. Ceci justifie l'emploi, par le Codex, d'une poudre très fine (tamis module 22) pour le titrage de la racine d'Aconit et de la plupart des drogues héroïques.

Mais, pour la teinture, nous concluerons, jusqu'à plus ample informé, à une erreur d'impression et nous continuerons à utiliser, pour sa préparation, une *poudre demi-fine, tamis module 26 du Codex 1937*.

2 - Degré alcoolique.

Une modification plus importante et qui rompt, en quelque sorte, l'uniformité cherchée par la Conférence de Bruxelles de 1902, est celle de l'emploi de l'alcool à 90° à la place de l'alcool à 70°, utilisé par le Codex de 1908. Il est vrai que, depuis le supplément du Codex de 1925, la teinture de Chanvre Indien est également obtenue avec de l'alcool à 90°.

Ce degré alcoolique supérieur permet-il une extraction plus complète des alcaloïdes ou simplement une meilleure conservation de la teinture?

Dans le but de répondre à ces questions, nous avons préparé plusieurs teintures d'Aconit, en faisant varier seulement le degré de l'alcool employé.

Nos expériences ont porté sur deux lots différents de racine d'Aconit : le premier lot (lot n° 1) s'est révélé très pauvre en alcaloïdes puisque la poudre contenait seulement 0 gr. 45 % d'alcaloïdes totaux ; le second (lot n° 2) était beaucoup plus riche, titrant 1 gr. 29 d'alcaloïdes pour 100 grammes de poudre.

Avec la poudre du lot n° 1, nous avons préparé deux teintures, en suivant, dans les deux cas, le mode opératoire indiqué par le Codex de 1937, mais avec une macération de douze heures seulement dans le percolateur, et nous utilisions, une fois l'alcool à 70°, l'autre fois, l'alcool à 90°. Avec la poudre du lot n° 2, nous avons préparé quatre teintures, toujours suivant le mode opératoire précédent : deux, parmi ces teintures, étaient obtenues avec l'alcool à 70°, les deux autres, avec de l'alcool à 90°. Mais nous insistons encore sur le fait que, chaque fois, nous avons opéré rigoureusement dans les mêmes conditions. Seul, le degré alcoolique variait.

Voici d'ailleurs les différentes phases de la technique employée :

— macération pendant deux heures et avec la moitié de son poids d'alcool, de la poudre préalablement desséchée 24 heures à l'étuve à 35°.

— remplissage du percolateur par petites portions, en nive-

lant chaque fois par tapotements sur les parois de l'appareil et légère pression sur la couche supérieure.

— écoulement du solvant goutte à goutte jusqu'à ce que le liquide forme une couche de deux ou trois centimètres au-dessus du niveau de la poudre.

— macération de douze heures seulement dans le percolateur, suivant les conclusions adoptées dans la première partie de ce travail.

— enfin, écoulement du percolé à la vitesse de 4 à 5 gouttes par minute, ce qui correspond à une fois et demie environ le poids de la drogue en 24 heures.

L'opération dure six à sept jours et porte, chaque fois, sur 100 grammes de poudre.

Les teintures obtenues sont laissées deux ou trois jours en lieux frais, filtrées et dosées.

Le dosage chimique est suivi de la recherche de la dose minima mortelle (D. M. M.) pour le cobaye.

Les résultats sont consignés dans le tableau I.

L'examen de ce tableau nous montre que la même quantité d'alcaloïdes a été extraite dans chacune des teintures préparées avec le lot n° 1, quel que soit le degré de l'alcool employé.

Le dosage physiologique nous indique, de plus, qu'il n'y a pas eu, au cours de la préparation, une hydrolyse plus grande de l'aconitine avec l'alcool à 70° qu'avec l'alcool à 90°, puisque, dans les deux cas, la D. M. M. est de 20 unités.

Quant aux quatre teintures du lot n° 2, elles confirment les résultats précédents. En effet, on ne doit pas tenir compte d'une différence de quelques milligrammes dans le dosage des alcaloïdes totaux : ce sont là, erreurs d'expérience. D'autre part, il faut, chaque fois, 30 unités pour la D. M. M. (1)

(1) Ces résultats ont été obtenus en suivant la technique de **Mme Malmanche** que nous avons précisée. Partant comme base de la dose de 9 unités pour la D. M. M., nous avons augmenté progressivement la quantité de teinture d'Aconit à injecter, de 2 unités en 2 unités, jusqu'à 30. Comme chaque expérience exige un lot de 3 cobayes, et ceci, pour chaque teinture étudiée, il est aisé d'imaginer le nombre important de cobayes qu'il a fallu pour arriver à ces résultats. Et à nouveau, nous tenons à exprimer ici notre gratitude à monsieur le **Doyen Astruc**, qui nous a permis de réaliser un travail aussi coûteux.

TABLEAU I

Lots d'Aco- nit	Alcool employé	Poids de l'anhydride silicotungstique	Alcaloïdes pour 1.000 gr. de teinture	Dose minima mortelle
N° 1	Alcool à 70°	{ 0,047 ⇒ 0,047 0,047	⇒ 0 gr, 364	20 u
	Alcool à 90°	{ 0,0465 ⇒ 0,047 0,0475	⇒ 0 gr, 364	20 u
N° 2	Alcool à 70°	1 { 0,110 ⇒ 0,111 0,112	⇒ 0 gr, 880	30 u
		2 { 0,114 ⇒ 0,1132 0,1125	⇒ 0 gr, 898	
	alcool à 90°	1 { 0,112 ⇒ 0,112 0,112	⇒ 0 gr, 888	30 u
		2 { 0,113 ⇒ 0,113 0,113	⇒ 0 gr, 896	

Autre fait à signaler, c'est que, le premier Aconit, tout étant beaucoup plus pauvre en alcaloïdes totaux, contient une proportion plus importante d'aconitine. En effet, d'après le dosage chimique, le lot n° 1 contient environ trois fois moins d'alcaloïdes (0 gr. 45 $\frac{0}{100}$) que le lot n° 2 (1 gr. 29 $\frac{0}{100}$) : le *rapport chimique* des deux lots est donc de 1 à 3. Mais le dosage physiologique nous montre que 20 unités suffisent à tuer le cobaye pour la teinture préparée avec le lot n° 1 alors qu'il en faut 30 pour celle obtenue avec le lot n° 2 ; dès lors, le *rapport physiologique* des deux lots d'Aconit est de 2 à 3 et comme la dose minima mortelle exprime, en somme, la teneur en aconitine de l'échantillon examiné, nous pouvons déduire de ces expériences que le premier lot contient, proportionnellement, deux fois plus d'aconitine que le second.

Ceci nous a été confirmé, d'ailleurs, par les symptômes observés au cours de la détermination de la D. M. M. Avec les teintures du lot n° 2, en effet, les symptômes se rapprochent davantage de ceux de l'intoxication par la benzoylaconine : les hoquets sont plus espacés, mais les spasmes plus nombreux ; l'animal est flasque, refroidi et semble anesthésié, alors que c'est la paralysie, plus spécialement des membres inférieurs, qui domine dans l'intoxication par l'aconitine.

Ainsi donc, dans les expériences précédentes, le degré de l'alcool employé pour la préparation des teintures d'Aconit, n'a pas eu d'influence sur l'extraction des alcaloïdes. D'autre part, nous n'avons pas observé une hydrolyse plus grande de l'aconitine au cours de l'extraction avec l'alcool à 70° qu'avec l'alcool à 90°.

L'emploi de l'alcool à 90°, rendu obligatoire par le nouveau Codex, assure-t-il une meilleure conservation ? C'est ce que nous allons étudier maintenant.

Cette question de l'altération des solutions d'aconitine et de la teinture d'Aconit, déjà mise en évidence, comme nous l'avons vu, par ALDER WRIGHT, en 1877, fut, depuis, l'objet de nombreuses discussions.

La plupart des auteurs admettent, en effet, une hydrolyse de l'aconitine avec le temps et cherchent les moyens de la diminuer.

Cependant STEVENS (1903), puis SCOVILLE (1919) qui retira des préparations obtenues neuf ans auparavant, ne constatent aucune perte sensible en alcaloïdes bien qu'ils effectuent le contrôle physiologique, par la méthode de SQUIBB.

Par contre, SWANSON et WALTERS (1923) observent l'hydrolyse de l'aconitine en solution et dans la teinture. Ils sont les premiers à émettre l'hypothèse que le pH pourrait intervenir comme condition de stabilité de ces préparations.

GORIS et MÉTIN, en France (1925), notent également l'altération rapide d'une solution d'azotate d'aconitine et la diminution de toxicité de semaine en semaine. Mais, avec la teinture, l'altération semble plus lente puisque Mme MALMANCHE trouve, après six mois de conservation, la même D. M. M. Ce n'est qu'après dix-huit mois, qu'il est nécessaire d'employer 10 unités au lieu de 7, pour tuer le cobaye. Cet auteur a étudié également la conservation de la même teinture avec l'addition de divers acides, de glycérine, de saccharose, d'hydroquinone et conclut que « l'addition des acides facilite incontestablement la conservation, mais le rôle conservateur est si restreint que l'on se demande s'il est bien nécessaire d'adopter une formule spéciale ».

Cependant, SWANSON et HARGREAVES (1927) conseillent un pH de 2,5 à 3. Ces données sont confirmées par HAAG et HAWKINS (1931) qui recommandent à leur tour d'amener la teinture à un pH de 2 à 3, ce qui ralentirait l'altération par hydrolyse de l'aconitine.

GIRAULT (1934) propose alors de préparer la teinture avec l'alcool acétique lui-même, obtenu par mélange d'alcool à 90°, d'eau et d'acide acétique. D'après lui, l'acide acétique est préférable aux acides minéraux qui pourraient estérifier plus rapidement l'alcool et aussi altérer les alcaloïdes. Parmi les acides organiques, il doit être préféré également aux acides citri-

que et tartrique, qui doivent être, au préalable, dissous dans l'alcool. Il est simplement regrettable que cet auteur ne donne pas le résultat de ses recherches.

Ainsi donc, les avis sont partagés : sans doute, à l'heure actuelle, admet-on généralement l'altération, par hydrolyse, des préparations d'Aconit en fonction du temps, mais les résultats sont contradictoires sur l'importance de cette altération.

Dans ces conditions, nous avons cru faire œuvre utile en apportant notre contribution au problème et en particulier, tenant compte des travaux de GIRAULT, nous avons préparé, selon ses indications, et avec le lot n° 2, une teinture avec l'alcool à 90° acétique. Cette teinture a été obtenue parallèlement et dans des conditions rigoureusement identiques à celles des teintures préparées avec l'alcool à 70° et l'alcool à 90°. Avec ce procédé, nous avons d'ailleurs recueilli un percolé absolument comparable quant à sa teneur en alcaloïdes et sa valeur physiologique au percolé obtenu avec de l'alcool à 90° ordinaire, sans acide acétique. Il contenait en effet 0 gr. 890 $\frac{0}{100}$ d'alcaloïdes totaux et la teinture, ramenée à 0 gr. 50 $\frac{0}{100}$, titrait 30 unités physiologiques.

Voyons maintenant ce qu'il advient de ces teintures, après six mois de conservation à l'obscurité.

Les résultats sont consignés dans le tableau II.

Ils nous montrent que l'emploi de l'alcool à 90°, exigé par le Codex de 1937, semble bien assurer, comme le faisaient pressentir les travaux de HASKELL (1916), puis de GORIS et MÉTIN (1925) une conservation quelque peu meilleure que l'alcool à 70°. Mais il faut reconnaître que ce procédé est loin de valoir celui à l'alcool acétique de GIRAULT et ainsi se trouvent confirmées les recherches exigeant un milieu assez fortement acide pour la conservation de la teinture d'Aconit.

3 - Conduite de la lixiviation.

Il nous reste à envisager maintenant la conduite de la lixiviation.

TABLEAU II

Alcool employé	D. M. M. au moment de la préparation de la teinture	D. M. M. après six mois de conservation à l'obscurité
Alcool à 70°	30 u	60 u
Alcool à 90°	30 u	55 u
Alcool à 90° acétique	30 u	30 u

Le Codex de 1908 indiquait de poursuivre l'opération jusqu'à l'obtention de 1000 grammes de teinture pour 100 grammes de poudre. Le titrage effectué, la teinture était ramenée au titre de 0 gr. 50 $\frac{0}{100}$ d'alcaloïdes totaux. Celui de 1937 ne modifie pas l'opération elle-même, mais arrête l'écoulement après l'obtention de 950 grammes de teinture pour 100 grammes de poudre. C'est d'ailleurs le mode opératoire adopté par la pharmacopée américaine pour toutes les teintures titrées. On effectue alors le dosage des alcaloïdes et on ramène au titre de 0 gr 50 $\frac{0}{100}$.

Faut-il considérer l'épuisement de la poudre comme terminé à ce moment-là ?

Déjà, en 1909, ASTRUC, dans un travail sur quelques teintures héroïques, insistait sur l'intérêt présenté par les recherches de BREDEMANN (1902), desquelles il paraît bien ressortir que la lixiviation nécessite, pour l'épuisement complet de certaines drogues, une quantité de solvant supérieure à celle que l'on utilise d'ordinaire. C'est ainsi que BREDEMANN précise qu'il

conviendrait d'employer, pour la teinture d'Aconit, 160 grammes de véhicule pour obtenir, par concentration, 100 grammes de teinture, correspondant à 10 grammes de poudre, et BREDEMANN de proposer, pour la préparation des teintures par lixiviation, la mise de côté des premières parties du lixivié et l'évaporation des dernières, celles-ci étant très peu chargées en principes actifs. Ce procédé rappelle celui qui préside à la confection des extraits fluides, disent ASTRUC et DÉJEAN, dans le développement de leurs recherches.

Cherchant à préciser ces données, nous avons remarqué, dans une première série d'expériences portant sur l'Aconit du lot n° 1 (titrant 0 gr 45 0/0 d'alcaloïdes totaux) que, si l'on recueille 1000 grammes de teinture pour 100 grammes de poudre mise en expérience, il n'y a plus d'alcaloïdes dans les 50 derniers grammes de liquide écoulé. En effet, 10 cc de teinture, auxquels on ajoute 1 à 2 gouttes d'acide chlorhydrique, évaporés à sec et repris par quelques cc d'eau distillée, ne donnent aucun louche avec le réactif de Mayer. Et cependant, nous ne retrouvons, dans la teinture, que 0 gr 364 d'alcaloïdes sur les 0 gr 452 dosés dans la poudre. Ceci semble bien prouver que, par le procédé habituel, on n'arrive pas à extraire toute la quantité d'alcaloïdes contenus dans la poudre. Ce n'est d'ailleurs pas spécial à l'Aconit, puisque déjà, en 1909, ASTRUC et DÉJEAN constataient que, lors de la préparation de la teinture de Digitale, on n'enlevait que 80 0/0 de digitaline à la plante. Nous retrouvons cette proportion dans le cas présent :

$$\frac{0 \text{ gr } 364}{0 \text{ gr } 452} = 80 \text{ 0/0 environ}$$

Mais s'il n'y a plus d'alcaloïdes dans les derniers grammes d'une teinture obtenue avec un Aconit pauvre, il n'en est pas de même si l'on utilise un Aconit relativement riche. Répétant, en effet, l'expérience précédente avec la poudre du lot n° 2, titrant 1 gr. 29 0/0 d'alcaloïdes totaux, nous avons constaté que la réaction de Mayer était positive dans les derniers grammes de teinture.

A-t-on alors intérêt à pousser la lixiviation jusqu'à 1.000 grammes de teinture ou à l'arrêter à 950 grammes, comme le demande le Codex de 1937?

Afin de répondre à cette question, nous avons, après avoir recueilli les 950 grammes de la teinture n° 1 (du lot n° 2), poursuivi l'opération jusqu'à 1.000 grammes de teinture.

Le dosage chimique nous a alors montré qu'il existait, dans les 950 premiers grammes de teinture (procédé Codex 1937), 0 gr. 843 d'alcaloïdes soit 0 gr. 888 ‰ d'alcaloïdes totaux, et, dans les 50 derniers grammes, 0 gr. 007.

Calculons maintenant la quantité de teinture titrant 0 gr. 50 ‰ d'alcaloïdes totaux que l'on peut obtenir dans chacun des cas envisagés : celui où l'on arrête l'écoulement après avoir recueilli 950 grammes de produit et celui où on laisse s'écouler 1.000 grammes de percolé.

Dans le premier cas, pour obtenir 1.000 grammes de teinture titrant 0 gr. 50 ‰, il nous faudra prendre :

$$\frac{950 \times 0,5}{0,843} = 563 \text{ grammes de teinture à } 0 \text{ gr. } 888 \text{ ‰}$$

Il faut tenir compte alors du fait que l'on a obtenu seulement 950 grammes de percolé, si bien qu'il ne reste que :

$$950 \text{ gr.} - 563 \text{ gr.} = 387 \text{ grammes de teinture à } 0 \text{ gr. } 888 \text{ ‰}$$

Et avec ces 387 grammes, on pourra préparer :

$$\frac{1.000 \times 387}{563} = 687 \text{ grammes de teinture titrant } 0 \text{ gr. } 50 \text{ ‰}$$

En définitive, on aura :

$$1.000 \text{ gr.} + 687 \text{ gr.} = 1.687 \text{ grammes de teinture titrant } 0 \text{ gr. } 50 \text{ ‰ d'alcaloïdes totaux.}$$

Calculons maintenant la quantité d'alcool à 90° qui a été nécessaire pour arriver à ce résultat.

Il a fallu tout d'abord :

1.200 grammes d'alcool pour l'obtention des 950 grammes de percolé, puis 1.000 gr. — 563 gr., soit 437 grammes d'alcool pour préparer les 1.000 premiers grammes de teinture à 0 gr 50 ‰, enfin 687 gr. — 387 gr. soit 300 grammes d'alcool pour la deu-

xième dilution, c'est-à-dire, au total, 1937 grammes d'alcool à 90° qui nous ont permis d'obtenir les 1687 grammes de teinture à 0 gr. 50 °/100.

Le rendement est alors : $\frac{1687 \text{ gr.}}{1937 \text{ gr.}} = 87 \text{ °/100 environ.}$

Dans le deuxième cas, lorsque nous avons poursuivi l'opération jusqu'à 1.000 grammes de teinture, nous avons vu qu'il y avait seulement 7 milligrammes d'alkaloïdes dans les 50 derniers grammes de teinture. Comme les 950 premiers grammes en contenaient 0 gr. 843, la teinture ainsi obtenue titrait alors 0 gr. 843 + 0 gr. 007 soit 0 gr. 850 °/100 d'alkaloïdes totaux mais nous en avions 1.000 grammes.

Si on applique les calculs précédents à cette teinture, on constate qu'il faut :

$\frac{1.000 \times 0,5}{0,85} = 588$ grammes de cette teinture pour en obtenir 1.000 grammes titrant 0 gr. 50 °/100.

Avec les 1.000 gr. — 588 gr. = 412 grammes restants, on pourra préparer encore.

$\frac{1.000 \times 412}{588} = 700$ grammes de teinture à 0 gr. 50 °/100.

On obtiendra finalement 1.700 grammes de teinture titrant 0 gr. 50 °/100 d'alkaloïdes totaux, et on aura employé pour cela :

1.250 gr. d'alcool pour la préparation du percolé
 + 1.000 gr. — 588 gr. = 412 « « « « première dilution
 + 700 gr. — 412 gr. = 288 « « « « deuxième «
 c'est-à-dire, en tout 1.950 grammes d'alcool.

Le rendement est alors, dans ce cas, de $\frac{1.700}{1950} = 87 \text{ °/100 environ.}$

Le rendement est donc identique dans les deux cas : nous rappelons qu'il s'agit ici du rapport entre la quantité de teinture obtenue et celle d'alcool employé.

Mais si, avec le nouveau procédé du Codex, il n'y a aucun gain d'alcool, ce qui est normal étant donné la faible proportion

d'alcaloïdes contenus dans les dernières parties du percolé, il y a néanmoins une légère économie de temps. En effet, avec le procédé de 1908, on obtient seulement 1.700 gr. — 1.687 gr. soit 13 grammes de teinture titrant 0 gr. 50 $\frac{0}{100}$ de plus qu'avec celui de 1937 et il nous faut, pour arriver à ce résultat, 7 à 8 heures environ ; et la quantité supplémentaire de 13 grammes de teinture obtenue ne compense pas, pour l'industriel, une immobilisation de 8 heures, de ses appareils.

Il ressort de ces faits que la modification apportée, à ce sujet, par le dernier formulaire, a son intérêt. Elle se traduit, normalement, par un léger gain de temps, mais où ce résultat devient très appréciable, c'est lorsqu'on opère avec un Aconit pauvre en alcaloïdes : nous avons vu, en effet, que les 50 derniers grammes de liquide écoulé ne contenaient plus d'alcaloïdes. Dans ce cas, on a donc, avec le procédé de 1937, à la fois économie de temps et économie d'alcool.

Nous basant alors sur le fait que les dernières parties de percolé ne contiennent que très peu d'alcaloïdes, nous avons pensé, qu'en arrêtant l'opération encore plus tôt, avant même l'obtention de 950 grammes de percolé, on pourrait avoir de meilleurs résultats. C'est en somme ce qui est appliqué dans le procédé de la pharmacopée suisse, dont voici le principe : on épuise la drogue avec dix fois son poids d'alcool et, lorsque tout le liquide est passé, on exprime le marc, on réunit le percolé et le liquide exprimé ; on détermine enfin la teneur en alcaloïdes après repos de deux ou trois jours et filtration.

En raison de l'absorption par le marc d'une quantité relativement importante d'alcool, on ne recueille, avec ce mode opératoire, que 850 grammes de teinture pour 100 grammes de poudre et 1.000 grammes d'alcool employé.

Dans notre expérience, ces 850 grammes de percolé contenaient 0 gr. 825 d'alcaloïdes, ce qui nous a permis de préparer 1650 grammes de teinture titrant 0 gr. 50 $\frac{0}{100}$. Puisqu'on recueille une quantité de percolé inférieure, l'opération dure 18 heures de moins qu'en suivant le procédé du Codex de 1937

et le rapport teinture s/alcool, calculé comme nous l'avons indiqué précédemment, est de 91 °/o.

Nous obtenons dans ces conditions :

1.687 gr. — 1.650 gr. soit 37 grammes de teinture de moins qu'avec le mode opératoire de notre dernier formulaire, mais la durée de l'opération est réduite de 18 heures.

La modification apportée par le Codex de 1937 pourrait donc être poussée encore plus loin, et il y aurait avantage à arrêter l'opération après l'emploi de dix parties de solvant pour une partie de drogue, et non pas de douze parties environ pour une de drogue, comme il est nécessaire pour la préparation des teintures au 1/10. (1)

* * *

En résumé, on peut tirer, des modifications apportées par le Codex de 1937 au sujet de la teinture d'Aconit, les conclusions suivantes :

1° Il convient de continuer à utiliser, pour la préparation de cette teinture, une *poudre demi-fine*, car elle permet de réaliser, mieux qu'une poudre fine, une bonne marche de l'opération.

2° L'alcool à 90° n'assure pas une extraction plus complète des alcaloïdes que l'alcool à 70°. Il permet toutefois une conservation quelque peu meilleure que l'alcool à 70°, mais qui n'est pas comparable cependant à celle obtenue avec l'alcool acétique : dans ce dernier cas, en effet, la dose minima mortelle n'a pas changé après six mois de conservation à l'obscurité.

3° La conduite de lixiviation, adoptée par le Codex de 1937, est intéressante car on peut ainsi réaliser un léger gain de temps, quel que soit l'Aconit employé ; et, dans le cas particulier d'un Aconit pauvre en principes actifs, cette économie de temps est accompagnée d'un gain sur la quantité d'alcool employée. Et cet avantage est encore plus important si l'on emploie le procédé de la pharmacopée suisse.

(1) Le terme au 1/10 exprime, en effet, le rapport drogue s/teinture, et non drogue s/solvant.

Mais, par le mode opératoire du Codex de 1937 et surtout par la technique suisse, la quantité finale de teinture obtenue est plus faible qu'avec le procédé du Codex de 1908. Nous allons voir qu'il en va tout autrement, avec la méthode de lixiviation à chaud que nous proposons.

II. Constantes de la nouvelle teinture.

Mais auparavant, il nous reste à établir quelques constantes de la nouvelle teinture et à les comparer avec celles de la teinture du Codex de 1908.

Nous avons déterminé la densité, l'extrait sec à 100°, l'indice d'acidité, le coefficient d'eau et enfin le nombre de gouttes au gramme qui, logiquement, devait varier lui aussi, le degré alcoolique des deux teintures étant différent.

La densité a été prise à l'alcoomètre et à la température de 15°.

L'extrait sec à 100° a été obtenu selon la technique de SCHMITT (1904), sur 25 grammes de teinture. Nous avons utilisé des capsules de silice (diam. : 0 m. 06 ; haut. : 0 m. 02). Ces capsules sont placées à l'étuve à 100°, jusqu'à ce qu'il n'y ait pas, entre deux pesées consécutives, faites à une heure d'intervalle, de différence supérieure à un milligramme. Chaque pesée n'a lieu qu'après refroidissement, pendant dix minutes à l'exsiccateur en présence d'acide sulfurique. On peut considérer, pratiquement, l'extrait terminé après 24 heures. Le résultat est alors rapporté à 100 grammes de teinture.

La détermination de l'extrait sec perd d'ailleurs de sa valeur pour les teintures ramenées à un titre déterminé. L'extrait sera, en effet, d'autant plus faible que la dilution aura été plus grande, c'est-à-dire que la teinture initiale sera plus riche en alcaloïdes. Aussi le Codex de 1937 qui indique l'extrait sec de la plupart des teintures, fait-il exception pour la teinture d'Aconit. Nous l'avons déterminé cependant pour permettre la comparaison entre les teintures obtenues avec l'alcool à 90° et l'alcool à 70°.

Le coefficient d'eau, qu'après GAY, DOMERGUE (1892) a repris, est relaté par l'essai du Codex qui mentionne seulement que : « la teinture d'Aconit doit donner un trouble léger par addition de son volume d'eau distillée ». Pour déterminer le coefficient d'eau, 10 cc de teinture sont mis dans un bécher et on y verse de l'eau distillée, à la burette de Mohr, à la température du laboratoire, jusqu'à obtention d'un trouble immédiat.

L'indice d'acidité de SCHMITT « exprime en milligrammes de potasse la quantité d'hydrate de potasse nécessaire pour saturer l'acide de 10 cc de teinture : 10 cc de teinture sont étendus à 100 avec de l'eau distillée et dosés par la potasse $n/10$ en présence de phénolphtaléine.

Le nombre de gouttes a été déterminé à la température de 15°, avec un compte-gouttes officinal, c'est-à-dire donnant vingt gouttes d'eau distillée au gramme, et de telle sorte que l'écoulement ait lieu en chute libre.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau III.

Nous voyons que les valeurs de la densité, de l'extrait sec et de l'indice d'acidité sont plus élevées pour la teinture obtenue avec l'alcool à 70° que pour la teinture du Codex de 1937, préparée avec l'alcool à 90°. Ceci n'a rien d'étonnant si l'on songe que l'alcool à 70° est susceptible d'extraire, dans l'Aconit, une plus forte proportion de substances et, en particulier, de matières tanniques, que l'alcool à 90°. D'ailleurs, la coloration des deux teintures n'est pas la même, la teinture du nouveau Codex étant nettement moins colorée que celle de l'ancien.

Inversement, le coefficient d'eau est, naturellement, plus élevé avec la teinture à 90° qu'avec celle à 70°.

Enfin, le nombre de gouttes au gramme est différent pour les deux teintures : il est, à 15°, de 57 gouttes pour la teinture à 70°, et de 61 gouttes, ainsi que nous l'avons déterminé, pour la teinture à 90°. Ceci serait évidemment banal et ne mériterait pas qu'on y insiste si le Codex de 1937 n'avait fait une omission à ce sujet, conservant, p. 338 du tome II, l'indication

TABLEAU III

Lots d'Aconit	Technique suivie	Densité à 15°	Ext. sec de 100gr. de teinture	Indice d'acidité en mmgr. de HOK	Coefficient d'eau	Nombre de gouttes gramme
N° 1	Codex 1908	0,885	1 gr, 2	5 mmgr, 6	3 cc, 2	57.
	Codex 1937	0,832	1 gr, 07	3 mmgr, 9	3 cc, 8	61
N° 2	Codex 1908	0,890	1 gr, 14	5 mmgr, 04	3 cc, 3	57
	Codex 1937	0,832	0 gr, 982	3 mmgr, 9	3 cc, 8	61

de 57 gouttes au gramme pour la nouvelle teinture. Le pharmacien fera bien de se souvenir de ce détail pratique s'il désire effectuer un essai physiologique et calculer la dose minima mortelle d'une teinture d'Aconit ; ou, plus simplement, lorsqu'il aura à préparer une potion contenant de la teinture du nouveau Codex, formulée en poids, et qu'il fera la transformation en gouttes, pour faciliter l'exécution de la formule magistrale. C'est bien une observation pratique sur laquelle nous avons déjà insisté dans la note publiée en collaboration avec ASTRUC et GIROUX (1938).

B. ESSAIS DE LIXIVIATION A CHAUD.

L'intérêt de la lixiviation à chaud, pour les liquides aqueux, a été mis en évidence, ocmme nous l'avons vu dans la première partie de ce travail, par les travaux d'ASTRUC et CAMBE (1906), et ASTRUC et CAPILLÉRY (1909). CAPILLÉRY (1910) a étudié, en particulier, les solutions extractives aqueuses de quelques drogues à alcaloïdes (Quinquina, Grenadier, Ipéca, noix de Kola, feuilles de Thé) et il a trouvé, en utilisant l'appareil d'ASTRUC, des teneurs alcaloïdiques supérieures de 3 à 8 0/0 en faveur de la lixiviation à chaud.

Nous avons pensé alors appliquer ce procédé, non plus à un liquide aqueux, mais à un liquide alcoolique.

La teinture d'Aconit nous fournissait un matériel d'études très intéressant en raison même de la constitution alcaloïdique de cette drogue et des méthodes de dosage que nous avions à notre disposition, pour apprécier, non seulement la teneur en alcaloïdes totaux, mais encore l'activité réelle de ce médicament.

Nous avons déjà vu que, parmi les trois alcaloïdes auxquels on ramène actuellement le « bloc alcaloïdique » de l'Aconit, l'aconitine ou acétylbenzoylaconine est susceptible de se doubler, au cours de la préparation ou de la conservation, en benzoylaconine et aconine, produits beaucoup moins actifs. Et c'est alors que le dosage physiologique prend toute sa valeur. En effet, la teneur en alcaloïdes « solubles dans l'éther », donnée par le procédé gravimétrique ne présente que de faibles variations après hydrolyse, puisque les alcaloïdes sont évalués en aconitine. Mais il n'en est pas de même pour le dosage physiologique qui tient compte uniquement de la proportion de ce principe actif.

Ceci explique les résultats, apparemment contradictoires, de Mlle BAREL d'une part, et Mme MALMANCHE d'autre part. La première prépare une teinture d'Aconit avec de l'alcool bouil-

lant et observe une teneur alcaloïdique légèrement inférieure à celle de la lixiviation ordinaire. Mais Mlle BAREL n'a pas contrôlé ses résultats par le dosage physiologique ; Mme MALMANCHE, au contraire, montre qu'un extrait d'Aconit, obtenu à 100°, est cinq à six fois moins toxique pour le cobaye qu'un extrait préparé à froid.

D'après cet auteur, la chaleur serait un des principaux agents d'hydrolyse de l'aconitine, mais cette action ne serait pas encore sensible à 40°.

D'autre part, le Codex recommande de ne pas dépasser la température de 60°, pour l'évaporation de la teinture d'Aconit en vue du dosage des alcaloïdes, afin d'éviter l'altération des principes actifs.

C'est ainsi que nous avons été amenée à choisir, pour nos expériences de lixiviation à chaud, les températures intermédiaires de 35° et 50°.

Mais la réalisation pratique de ces expériences exigeait une modification du lixivateur, proposé par ASTRUC, en 1910.

Pour avoir des résultats vraiment probants, il nous fallait en effet, opérer à une température rigoureusement constante pendant toute la durée de la lixiviation ; il nous fallait, d'autre part, éviter l'évaporation d'une partie de l'alcool au cours de l'opération. C'est dans ces conditions que nous avons été amenée à remplacer le lixivateur ASTRUC par celui qui a été modifié au laboratoire même de pharmacie galénique et décrit, ces jours-ci, dans une note insérée au *Journal de Pharmacie et de chimie* par ASTRUC, GIBOUX et BARTHE.

I. Appareil.

Cet appareil se compose essentiellement d'un lixivateur plongeant dans un thermostat.

Comme dans l'appareil d'ASTRUC, les dimensions du percolateur sont conformes aux indications du Codex. La hauteur du tronc de cône est de 36 cm., les diamètres des bases du tronc de

cône sont respectivement de 10 cm., et de 6 cm. 5 ; la hauteur de la partie infundibuliforme est de 5 cm., tandis que le diamètre du prolongement tubulaire est de 1 cm. L'angle que fait la génératrice avec l'axe du tronc de cône est sensiblement de 3°.

Ce percolateur est en cuivre étamé et a une capacité de deux litres. Il se visse par sa partie inférieure sur un tube b_1 dont le diamètre intérieur est de 1 cm et qui porte sur son trajet un robinet R. L'étanchéité est assurée par un système de plusieurs écrous E, séparés par des joints en fibre.

A la partie supérieure, s'adapte un bouchon de liège percé de deux orifices : dans l'un de ces orifices, passe un entonnoir à robinet permettant d'introduire le liquide extracteur, sans ouvrir l'appareil ; dans l'autre, on adapte un réfrigérant, afin de condenser, si nécessaire, les vapeurs d'alcool.

Le lixiviateur est presque entièrement plongé dans la cuve d'un thermostat que l'on remplit d'eau, au début de l'opération, cette eau étant préalablement portée à une température voisine de celle que l'on désire obtenir.

Le brassage du liquide est assuré par une hélice à grand pas, de 10 cm de diamètre, et dont l'axe est incliné à 45°. Elle est actionnée par un moteur de $1/25$ de C V., dont la vitesse de rotation a été réduite, grâce à une résistance en série.

La température est maintenue constante par un régulateur à toluène mercure T, lequel est en relation avec l'élément chauffant C par un relai interrupteur I.

Afin d'opérer dans les meilleures conditions, on laisse passer un courant constant dans l'élément chauffant pour diminuer la perte trop rapide de chaleur par rayonnement.

Le courant de chauffage suit le trajet :

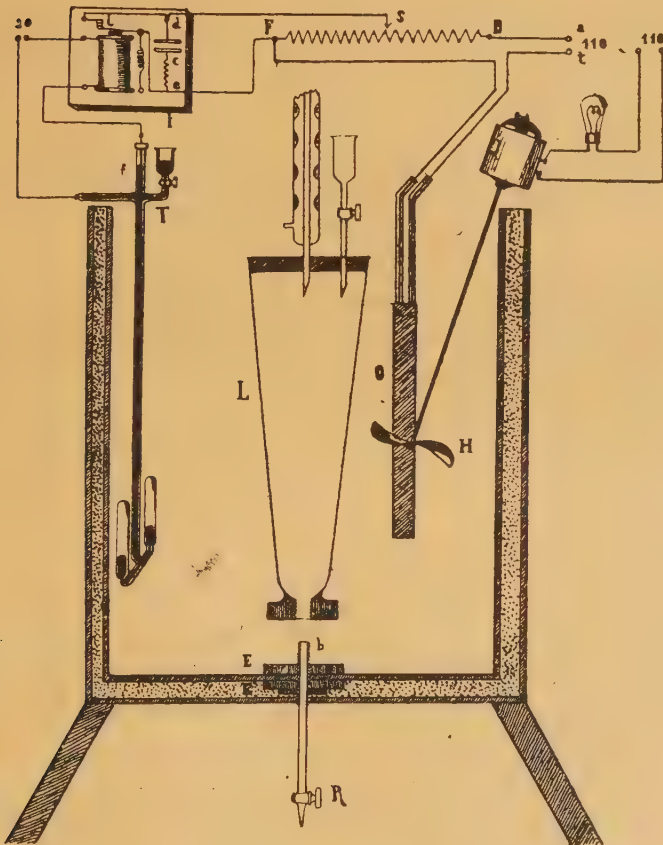
a. B. S. d. i. e. F. O. t.

et la résistance BS étant faible, l'intensité de ce courant est forte, d'où un chauffage intense. Le toluène se dilate et le mercure monte dans le capillaire jusqu'à établir le contact en f avec le fil de platine.

L'électro-aimant du relai se trouve excité et attire la lame d'où rupture en i.

Le courant passe alors par le circuit a. B.F.O. t., et comme BF est une forte résistance, l'intensité du courant qui traverse BF l'élément chauffant est faible, d'où un chauffage ralenti.

La résistance BS est réglée de telle façon qu'il y ait égalité



entre les durées de montée et de chute de la température ; d'autre part, la période de ce phénomène est assez longue pour permettre à l'équilibre de s'établir dans toute la masse du liquide qui est d'environ trente litres.

Un condensateur C monté en dérivation sur les bornes d. e., du régulateur absorbe l'étincelle qui se produirait en i quand le fil de platine et le mercure rentrent en contact.

Étant ainsi assurée d'opérer à une température constante et d'éviter l'évaporation de l'alcool nous avons effectué nos expériences de lixiviation à chaud. Elles ont porté sur le même Aconit, lot n° 2, titrant 1 gr 29 $\frac{0}{100}$ d'alcaloïdes totaux. Nous avons préparé alors une série de teintures avec de l'alcool à 70° et de l'alcool à 90° aux températures de 35° et 50°.

Nous avons opéré exactement dans les mêmes conditions que dans la préparation des teintures à froid : seule, la vitesse d'écoulement a été plus grande (8 à 9 gouttes par minute pour 100 grammes de poudre), puisque trois jours ont suffi pour l'obtention de 950 grammes de teinture, alors qu'à froid, six jours étaient nécessaires. Comme toujours, les teintures étaient laissées au repos deux ou trois jours, filtrées et les alcaloïdes dosés suivant la technique déjà décrite.

II. Résultats.

Nous avons tout d'abord calculé dans chaque cas, la quantité totale de teinture obtenue, teinture ramenée au titre de 0 gr 50 $\frac{0}{100}$; nous avons ensuite établi le rapport entre cette quantité de teinture et la quantité d'alcool utilisée.

Les résultats sont consignés dans le tableau IV et comparés à ceux des teintures préparées à froid, selon les procédés des Codex de 1908 et de 1937, et aussi selon le procédé de la pharmacopée suisse.

Nous voyons que, parmi tous les procédés étudiés, c'est la méthode suisse qui donne le meilleur rendement, si l'on consi-

dère seulement la quantité d'alcool employée par rapport à la quantité de teinture obtenue.

Est-ce à dire que ce procédé soit le plus intéressant pour l'industriel ? Non, car on n'obtient, par cette technique, que 1650 grammes de teinture et seulement un gain de 18 heures sur la méthode française, alors que par la lixiviation à chaud, on obtient, en définitive, plus de 2000 grammes de teinture à 35° et même près de 2300 grammes à 50°. D'autre part, le gain de temps est considérable : trois jours, ce qui permettrait à l'industriel de doubler le rendement de ses appareils.

Ainsi donc, à première vue, le rendement industriel du procédé de lixiviation à chaud est le meilleur, mais il reste maintenant à envisager le problème sous un autre angle et à rechercher si la teinture obtenue par la méthode de lixiviation à chaud présente la même activité physiologique que la teinture obtenue par les divers procédés à froid. En un mot, il importe de vérifier s'il n'y a pas eu, au cours de l'opération, hydrolyse de l'aconitine et, dans l'affirmative, à calculer, en tenant compte de cette hydrolyse, les doses nécessaires de la nouvelle teinture ; ainsi nous saurons si le rendement de notre procédé est réellement intéressant ou non.

Nous avons donc déterminé la dose minima mortelle des diverses teintures obtenues et nous constatons (tableau IV), déjà à 35°, une hydrolyse de l'aconitine, hydrolyse qui augmente encore à 50°. En effet, si 30 unités d'une teinture préparée à froid suffisent pour tuer le cobaye, il faut 40 unités avec une teinture obtenue à 35° et 45 unités avec une teinture obtenue à 50°. Remarquons toutefois que l'hydrolyse n'est pas plus importante avec l'alcool à 70° qu'avec l'alcool à 90°, ce qui confirme les résultats déjà obtenus, avec les teintures préparées à froid.

Il reste à calculer si la grande quantité de teinture préparée par la méthode de lixiviation à chaud, ne compense pas en quelque sorte la perte d'activité.

Les 1995 grammes de teinture n° 1, obtenue à 35° avec l'al-

cool à 90°, par exemple, correspondent seulement, au point de vue activité réelle, à :

$$\frac{1995 \text{ gr} \times 30}{40} = 1478 \text{ grammes de teinture à froid.}$$

En définitive, il n'y a qu'une différence de 200 grammes (1678 gr. — 1478 gr.) en faveur de la teinture à froid, mais, par contre, l'opération dure trois jours de moins.

De même, à 50°, les 2278 grammes de la teinture n° 2 correspondent à :

$$\frac{2278 \text{ gr.} \times 30}{45} = 1510 \text{ grammes de teinture à froid}$$

soit une différence de 1678 gr. — 1510 gr c'est-à-dire de 168 grammes, toujours en faveur de la teinture à froid.

Il serait préférable cependant d'opérer à 35°, car l'hydrolyse est moins grande et le rendement déjà très intéressant.

Il suffirait alors, dans la pratique, de modifier la posologie de la teinture, en augmentant le nombre de gouttes à employer. Ainsi, en tenant compte du rapport de l'activité des teintures préparées à froid et à 35°, qui est de 3/4, comme nous venons de le voir (30 et 40 unités), il faudra utiliser quatre gouttes de teinture à 35° pour trois gouttes de teinture à froid.

Il était également intéressant d'étudier la conservation de ces teintures, toujours en comparaison des teintures préparées à froid. Les résultats sont résumés dans le tableau V:

Ils nous montrent que la conservation est quelque peu meilleure avec l'alcool à 90° qu'avec l'alcool à 70°, quelle que soit la température à laquelle on opère, mais plus particulièrement à 50°. De plus, l'hydrolyse de l'aconitine se produit, à chaud, à peu près dans les mêmes conditions qu'à froid : la perte d'activité, après six mois de conservation, est, en effet, dans les deux cas de 50 % environ. C'est ainsi que la D. M. M., de la teinture, préparée à froid, avec l'alcool à 90° est passée, au bout de six mois, de 30 unités à 55 unités, et celle de la teinture préparée à 35°, dans les mêmes conditions, a varié de 40 à 72 unités.

Ayant ainsi apprécié la valeur de ces teintures, par un titrage

TABLEAU V

Alcool employé	Température de l'opération	D. M. M. au moment de la préparation de la teinture	D. M. M. après six mois de conservation à l'obscurité
Alcool à 70°	froid	30 u	60 u
	35°	40 u	75 u
	50°	45 u	93 u
Alcool à 90°	froid	30 u	55 u
	35°	40 u	72 u
	50°	45 u	85 u
Alcool à 90° acétique	froid	30 u	30 u

chimique et physiologique, il nous a paru utile d'en déterminer quelques constantes et de les comparer à celles des teintures préparées à froid,

La densité, l'extrait sec, l'indice d'acidité et le coefficient d'eau ont été successivement examinés, comme nous l'avons déjà indiqué pour les teintures des Codex de 1908 et de 1937.

Les résultats ont été groupés dans le tableau VI.

Nous voyons, d'après ce tableau, que la densité est sensiblement la même, quelle que soit la température utilisée, ce qui indique d'ailleurs qu'il n'y a pas eu évaporation d'alcool. Les légères différences observées peuvent être considérées comme des erreurs d'expérience.

L'extrait sec est moins élevé pour les teintures préparées à chaud, mais ceci est simplement le résultat de la plus grande dilution des teintures initiales. En effet, on dissout, en réalité, plus de substances à chaud qu'à froid, mais les percolés obtenus à chaud étant aussi plus riches en alcaloïdes, exigent une plus grande addition d'alcool pour être ramenés au titre de 0 gr. 50 ⁰/100, et l'extrait devient, par suite, plus faible. D'ailleurs, la quantité de substances extraites à chaud est telle, que les premières parties du percolé laissent déposer un précipité : ce précipité présente toutes les réactions des tannins. De plus, les teintures obtenues dans ces conditions, sont toujours plus colorées que les teintures préparées à froid.

L'extrait étant plus faible, l'indice d'acidité et le coefficient d'eau le sont aussi.

Il s'en suit que les constantes de ces teintures sont très comparables à celles des teintures à froid.

* * *

En définitive, la préparation de la teinture d'Aconit par lixiviation à chaud, présente des avantages incontestables. Elle assure :

1^o une meilleure extraction des alcaloïdes par l'alcool, permettant ainsi d'obtenir une quantité supérieure de teinture à 0 gr. 50 ⁰/100.

TABLEAU VI

Alcool employé	Température de l'opération	Densité à 15°	Extrait sec de 100 gr. de teinture	Indice d'acidité en mmgr. de HOK	Coefficient d'eau
Alcool à 70°	froid	$\frac{1}{2}$ 0,891	$\frac{1}{2}$ 1 gr, 20	$\frac{1}{2}$ 5 ^{mmgr} ,04	$\frac{1}{2}$ 3 ^{cc} , 3
		$\frac{2}{2}$ 0,890	$\frac{2}{2}$ 1 gr, 14	$\frac{2}{2}$ »	$\frac{2}{2}$ »
	35°	$\frac{1}{2}$ 0,890	$\frac{1}{2}$ 1 gr, 109	$\frac{1}{2}$ 4 ^{mmgr} ,48	$\frac{1}{2}$ 2 ^{cc} , 8
		$\frac{2}{2}$ »	$\frac{2}{2}$ 1 gr, 102	$\frac{2}{2}$ »	$\frac{2}{2}$ 2 ^{cc} , 9
	50°	$\frac{1}{2}$ 0,889	$\frac{1}{2}$ 1 gr, 112	$\frac{1}{2}$ 4 ^{mmgr} ,48	$\frac{1}{2}$ 3 ^{cc}
		$\frac{2}{2}$ 0,888	$\frac{2}{2}$ 1 gr, 110	$\frac{2}{2}$ »	$\frac{2}{2}$ »
Alcool à 90°	froid	$\frac{1}{2}$ 0,832	$\frac{1}{2}$ 0 gr, 940	$\frac{1}{2}$ 3 ^{mmgr} ,9	$\frac{1}{2}$ 3 ^{cc} , 8
		$\frac{2}{2}$ »	$\frac{2}{2}$ 0 gr, 982	$\frac{2}{2}$ »	$\frac{2}{2}$ »
	35°	$\frac{1}{2}$ 0,830	$\frac{1}{2}$ 0 gr, 820	$\frac{1}{2}$ 3 ^{mmgr} ,36	$\frac{1}{2}$ 2 ^{cc}
		$\frac{2}{2}$ 0,832	$\frac{2}{2}$ 0 gr, 832	$\frac{2}{2}$ 3 »	$\frac{2}{2}$ »
	50°	$\frac{1}{2}$ 0,831	$\frac{1}{2}$ 0 gr, 842	$\frac{1}{2}$ 3 ^{mmgr} ,36	$\frac{1}{2}$ 2 ^{cc} , 2
		$\frac{2}{2}$ 0,832	$\frac{2}{2}$ 0 gr, 890	$\frac{2}{2}$ »	$\frac{2}{2}$ 2 ^{cc} , 3

2^o un gain de temps appréciable, réduisant de moitié la durée de la lixiviation.

En revanche, dans le cas de la teinture d'Aconit, on observe une hydrolyse partielle de l'aconitine qui se traduit par une perte d'activité physiologique ; cependant, le calcul nous a prouvé que cette diminution d'activité était presque entièrement compensée par la plus grande quantité de teinture obtenue, si bien qu'il reste à l'actif de ce procédé, le gain de temps.

Mais, de plus, nous faisons remarquer que nous nous sommes placée, avec l'Aconit, dans des conditions extrêmement défavorables, par suite de la facilité avec laquelle l'aconitine s'hydrolyse ; et nous sommes convaincue qu'avec des drogues à principes actifs plus stables, le procédé que nous préconisons, permettra, non seulement de réaliser un gain de temps, mais encore d'obtenir une quantité plus importante de teinture qui sera tout aussi active que celle préparée à froid.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Depuis 1833, date à laquelle PIERRE-FRANÇOIS-GUILLAUME BOULLAY, et son fils, POLYDORE BOULLAY, tous deux pharmaciens, proposèrent leur « méthode de déplacement » pour l'épuisement des drogues, la lixiviation a été largement utilisée par les diverses pharmacopées qui se sont succédées, aussi bien en France qu'à l'étranger, et cela, malgré de nombreuses controverses, malgré même de véhémentes critiques. Si, de nos jours, la cause est désormais entendue et les avantages de cette méthode habituellement reconnus, la littérature continue cependant à s'enrichir de nombreux travaux sur la lixiviation, mais beaucoup plus, semble-t-il, pour en expliquer le mécanisme que pour en discuter l'opportunité et les avantages. Une mise au point de nos connaissances actuelles sur ce procédé de dissolution nous a paru susceptible d'intéresser le pharmacien et c'est le but que nous nous sommes proposée dans la première partie de ce travail. L'intérêt de cette première partie nous paraissait d'autant plus manifeste que le laboratoire de Pharmacie galénique de la Faculté de Pharmacie de Montpellier occupe une place honorable dans cette étude de la lixiviation, depuis l'exposé magistral qu'en a fait GAY, en 1897, jusqu'aux multiples recherches d'ASTRUC et de ses collaborateurs (1906 à ce jour).

Après un bref historique de la lixiviation, relatant les fortunes diverses et successives de cette méthode, nous nous sommes donc attachée à l'exposé des théories actuellement admises

pour expliquer les phénomènes complexes qui se passent au cours de l'opération. En effet, si, jusqu'à ce jour, on insistait principalement sur le déplacement, de haut en bas, du liquide extractif par le solvant neuf, ajouté au fur et à mesure des besoins ; récemment, deux auteurs, BUCHI et FEINSTEIN ont étudié la capacité d'extraction de ce nouveau solvant, mis en valeur le rôle des courants d'agitation, et précisé les phénomènes de diffusion et aussi de lavage des cellules détériorées pour lesquelles on ne saurait invoquer les échanges osmotiques.

Ceci fait, nous avons assez longuement insisté sur le *mode opératoire*, chaque détail de manipulation ayant son importance et ayant fait l'objet de travaux minutieux. C'est ainsi qu'après avoir décrit les différents types d'appareils proposés, tour à tour, depuis le filtre-pressé de RÉAL (1816) jusqu'au lixiviateur ASTRUC (1910), nous nous sommes préoccupée du degré de finesse et du degré d'humidité de la poudre, ainsi que de la nature du solvant. Quant à la conduite de l'opération, elle doit être menée selon des rites bien déterminés : humectation préalable, remplissage du percolateur et durée de l'influx, macération dans le percolateur, écoulement du percolé, déplacement du liquide extractif retenu dans le marc, autant de points qui demandaient à être précisés.

Et la conclusion de toutes nos recherches bibliographiques, c'est qu'en somme les indications du Codex sont parfaitement rationnelles pour ce qui est de l'appareil, de la drogue et du solvant. La technique elle-même est susceptible, dans son ensemble, de fournir de bons résultats. Toutefois, il y aurait intérêt, semble-t-il, à régler, au début la durée de pénétration du solvant, en le versant goutte à goutte sur la poudre, et aussi à réduire le temps de macération dans le percolateur à 12 heures seulement, temps qui, d'après nos expériences, nous paraît suffisant au lieu des 24 ou 96 heures qui sont exigées par notre formulaire.

Nous avons d'ailleurs, tenu compte de ces données au cours de nos recherches personnelles.

Quant aux méthodes annexes que nous avons ensuite rapidement passées en revue : la repercolation, la diaçolation et l'évacolation, elles ne paraissent pas, du moins pour l'instant, devoir fournir, dans la pratique, des résultats vraiment intéressants.

Il n'en est pas de même, par contre, de la lixiviation à chaud dont l'intérêt a été parfaitement démontré par ASTRUC et ses élèves, le lixivateur à chaud proposé par l'auteur, en 1910, étant un appareil à la fois simple, peu coûteux et de maniement facile.

La deuxième partie de notre travail est précisément une application de la lixiviation à chaud à la préparation de la teinture d'Aconit.

Mais, ainsi que nous l'avons exposé dans notre introduction, en raison de la facile décomposition des principes actifs de la drogue, il devenait indispensable, pour apprécier la valeur réelle de notre procédé de préparation, d'effectuer, non seulement le dosage chimique, mais encore le titrage physiologique des diverses teintures obtenues.

Ce sont ces diverses méthodes de dosage de l'activité de la teinture d'Aconit que nous exposons, dans un chapitre de généralités, après un bref historique sur la préparation de cette teinture, en France et à l'étranger.

Parmi les méthodes chimiques de dosage, nous avons expliqué pourquoi notre choix s'était fixé sur le dosage gravimétrique du Codex de 1908, modifié par ASTRUC, CANALS et BORDIER et encore précisé par MÉTIN. Quant à la technique du dosage physiologique, la plus pratique nous a paru être celle de Mme MALMANCHE, basée sur la détermination de la dose minima mortelle pour le cobaye. Avec ces deux méthodes, nous pouvions apprécier, non seulement la teneur en alcaloïdes totaux d'une préparation d'Aconit, mais encore son activité réelle puisque le dosage physiologique nous renseignait sur la teneur exacte en aconitine, seule base véritablement toxique et active.

Ainsi armée, nous avons tout d'abord comparé le procédé

de préparation des Codex de 1908 et de 1937. Ensuite, nous avons pratiqué des essais de lixiviation à chaud, à 35° et à 50°.

De l'étude comparative que nous avons faite sur les teintures des Codex de 1908 et de 1937, nous pouvons tirer les conclusions suivantes.

1° Il convient de continuer à utiliser pour la préparation de la teinture d'Aconit, une poudre *demi-fine* et non une poudre fine, dont on s'expliquerait d'ailleurs mal l'intérêt.

2° L'alcool à 90° ne permet pas une extraction plus complète des alcaloïdes que l'alcool à 70°, mais il assure toutefois une meilleure conservation. A signaler, à ce sujet, qu'une teinture préparée dans les mêmes conditions que les précédentes, mais avec de l'alcool à 90° acétique, a présenté, après six mois de conservation à l'obscurité, la même dose minima mortelle qu'au moment de sa préparation.

3° La technique de lixiviation, adoptée par le Codex de 1937, pour la teinture d'Aconit, mérite d'être retenue, car on réalise ainsi une légère économie de temps, accompagnée, surtout si l'Aconit est pauvre en principes actifs, d'une économie de solvant. Nous avons montré que cet avantage est encore plus appréciable avec le procédé de la pharmacopée suisse, qui pousse plus loin la modification du Codex de 1937, puisqu'on ne recueille que 850 grammes environ de percolé pour 100 grammes de poudre mise en œuvre.

Chemin faisant, nous avons, par ailleurs, déterminé les constantes de la nouvelle teinture du Codex de 1937.

Enfin, dans un dernier groupe de recherches, nous avons appliqué le procédé de lixiviation à chaud, à la teinture d'Aconit.

Nous avons utilisé, dans ces expériences, le lixivateur *ASTRUC*, en l'adaptant toutefois aux conditions requises pour le but que nous poursuivions : en particulier, nous avons remplacé la double paroi par un thermostat afin de maintenir la température constante pendant toute la durée de l'opération. De plus, toutes précautions ont été prises pour l'alimentation facile du percolateur en véhicule dissolvant et pour éviter les pertes de

celui-ci par volatilisation. Nos lixiviations ont été réalisées aux températures de 35° et 50°.

Le dosage chimique des principes actifs nous a révélé un épuisement de la drogue nettement plus poussé par le procédé à chaud que par la lixiviation à froid, ce qui se traduit, en définitive, par l'obtention d'une quantité plus importante de teinture à 0 gr. 50 ⁰/₁₀₀ d'alcaloïdes totaux. Et cela, avec une économie de temps appréciable, puisque la durée de la lixiviation était réduite de six jours à trois jours. Mais, en contrôlant le dosage chimique par le titrage physiologique, nous avons constaté que, déjà à 35°, il y avait hydrolyse de l'aconitine, cette hydrolyse étant légèrement plus accusée à 50°.

Cependant, même en tenant compte de cette perte d'activité, on peut vraiment estimer que la proportion plus grande de teinture obtenue par la lixiviation à chaud, compense, économiquement, la partie de l'aconitine qui a été hydrolysée.

De plus, il reste toujours à l'actif de ce procédé, un gain de temps important.

Pour ces deux raisons, nous ne doutons pas que la lixiviation à chaud puisse donner des résultats véritablement intéressants, au point de vue industriel, pour des drogues à principes actifs moins altérables que ceux de l'Aconit, et en particulier, pour les drogues à résines.

D'autre part, nous avons également montré, toujours par le dosage physiologique, que ces teintures, préparées à chaud, ne s'altéraient pas davantage, avec le temps, que celles préparées à froid.

Ces résultats, qui nous révèlent une hydrolyse à la température de 35° et une hydrolyse au cours de la conservation, appellent encore d'autres remarques. En effet, s'ils sont plus ou moins en accord avec ceux de SWANSON et WALTERS (1923), de GORIS et MÉTIN (1925), ils diffèrent de ceux de STEVENS (1903), SCOVILLE (1919), et surtout de ceux trouvés par Mme MALMANCHE (1929). Pour cet auteur, la dose minima mortelle de la teinture d'Aconit est normalement de 9 unités, alors que,

dans nos expériences, elle a été de 30 unités, à froid ; d'autre part, après six mois de conservation, Mme MALMANCHE ne constate *aucune hydrolyse* ; cet auteur indique enfin que, dans l'extrait d'Aconit, la décomposition de l'aconitine n'est pas encore sensible à 40° ; autant d'observations quelque peu divergentes, ce qui est fréquent dans le domaine biologique, parce que, ainsi qu'on nous l'a souvent répété dans l'enseignement galénique et pharmacodynamique, il est encore bien des facteurs qui nous sont inconnus.

Au reste, les résultats quelque peu contradictoires que nous venons de rapporter, n'ont-ils pas leur cause, tout simplement, dans la différence d'origine des Aconits étudiés ? Car, c'est un fait désormais bien démontré, et en particulier pour l'Aconit, que la composition chimique du végétal varie avec l'habitat et la saison. (GIROUX, 1936, note même, à propos des *Ericacées*, des variations journalières).

Dès lors, il paraît à peu près certain que l'aconitine existe, sous la forme de complexes plus ou moins variés dans la drogue servant à la préparation de la teinture ou de l'extrait, suivant le lieu et la date de la récolte, suivant aussi le mode et la durée de la conservation. Rien d'étonnant donc à ce que l'aconitine, existant sous des états différents, ne présente pas une stabilité et, par suite, une activité constantes. Et les mécomptes fournis jusqu'ici par les préparations d'Aconit, cesseront sans doute, le jour où le Codex exigera l'emploi d'un Aconit cultivé dans des conditions qu'il serait relativement facile de préciser, récolté à des dates déterminées et conservé suivant une technique connue, toujours la même. Et nous revenons ainsi, avec plus d'exigences peut-être, aux problèmes posés par BOURQUELOT, PERROT, GORIS et autres, sur les différences en principes actifs des végétaux, suivant leur état de vie ou de mort, de fraîcheur ou de sécheresse, etc. avec toutes les conséquences qui en découlent. Mais nous n'avons pas eu l'intention, ici, d'aborder, de plus près, ces graves questions de pharmacie galénique moderne.

BIBLIOGRAPHIE

- ADRIAN (1862). — Comparaison de la méthode de déplacement et de la macération dans la préparation des teintures alcooliques. *Journ. Pharm. et Chim.*, (3), t. 41, p. 116.
- ASTRUC (A.) (1910). — La lixiviation à chaud. Appareil. *Journ. Pharm. et Chim.*, (7), t. 1, p. 49. *Bull. Sc. Pharm.*, 17, p. 246.
- ASTRUC (A.) (1920). — Traité de pharmacie galénique. Maloine éd., Paris. 1^{re} éd. 1920, 3^e éd. 1935.
- ASTRUC (A.) et CAMBE (J.) (1906). — Le sirop de baume de Tolu. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 23, p. 418.
- ASTRUC (A.), CANALS (E.) et BORDIER (R.) (1922). — Sur le dosage des alcaloïdes dans l'extrait d'Aconit. *Journ. Pharm. et Chim.*, (7), t. 25, p. 161. *Bull. Sc. Pharm.*, 29, p. 483.
- ASTRUC (A.) et CAPILLÉRY (E.) (1909). — Sur la préparation des extraits aqueux du Codex 1908. *Bull. Pharm. Sud-Est*, 14, p. 453.
- ASTRUC (A.) et DÉJEAN (E.) (1908). — La teinture alcoolique de Digitale et l'alcoolature de Digitale. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 27, p. 282. *Bull. Sc. Pharm.*, 15, p. 683. *Bull. Pharm. Sud-Est*, p. 125.
- ASTRUC (A.), GIROUX (J.) et Mlle BÉRANGER (J.) (1938). — Quelques observations sur la teinture d'Aconit du Codex de 1937. *Journ. Pharm. et Chim.*, (8), t. 28, p. 273.
- AUENMULLER (1920). — Zusammenstellung der Resultate der bisher im Berner Pharmazeustischen Institut ausgeführten Arbeiten. *Schweiz. Apoth.-Zeit.*, 58, p. 433.
- BAREL (Mlle G.) (1925). — De la préparation par percolation de quelques extraits et teintures de la pharmacopée française. *Th. Doct. Pharm.*, Paris.

- BARI (von) (1935). — *Pharmaz. Zeit.*, 80, pp. 852, 880, 1265.
- BENTLEY (1933). — A Text Book of Pharmaceutics, London, p. 320.
- BERNEGAU (H.) (1909). — Some laboratory notes on assay work. *Amer. Journ. Pharm.*, 81, p. 122.
- BERRY (H.) et DAVIS (H.) (1935). — Valeur de la macération et de la percolation pour la préparation de la teinture de Digitale. *Quart Journ. of Pharm. and Pharmacol.*, t. 8, p. 443. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1936, (8), t. 24, p. 335.
- BERTRAND (G) (1899). — Emploi de l'acide silicotungstique comme réactif des alcaloïdes. *Bull. Soc. Chim.*, (3), t. 21, p. 434.
- BORDIER (R.) (1922). — Dosage des principes actifs dans les drogues servant à obtenir quelques extraits alcooliques (avec l'alcool à 70°). Etude spéciale de l'Aconit. *Th. Doct. Pharm.*, Montpellier.
- BORN (1935). — Studien über einige Arzneizubereitungen der Ph. H. V. des Chinarinde. *Th.*, Berne.
- BOULLAY (P. F. G.) et BOULLAY (P.) (1833-1835). — Méthode de déplacement, Colas éd., Paris.
- BOULLAY (1862). — Note sur la méthode de déplacement. *Journ. Pharm. et Chim.*, (3), t. 41, p. 264 ; t. 42, p. 60.
- BRANDEL et KREMERS (1906). — *Pharm. Review, Milwaukee*, 24, p. 365.
- BREDDIN (1930). — *Pharmaz. Zeit.*, 75, p. 1261.
- BREDDIN (1935). — Das Diakolationsverfahren, *Kirchhain*.
- BREDEMANN (1902). — Recherches comparées sur la préparation des teintures. *Apoth.-Zeit.*, 17, p. 12. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 15, p. 469.
- BRIDEL (M.) (1911). — De l'influence du degré alcoolique et du mode de préparation (macération et lixiviation) sur la teneur en principes immédiats de la teinture de Gentiane, préparée avec une racine non fermentée. *Journ. Pharm. et Chim.*, (7), t. 4, p. 545.
- BRIDEL (M.) et Mlle BAREL (G.) (1925). — La durée de la percolation peut être considérablement diminuée. *Journ. Pharm. et Chim.*, (8), t. 1, pp. 268, 498 ; t. 2., pp. 49, 476. *Bull. Sc. Pharm.*, 1926, 33, p. 342.
- BRIDEL (M.) et Mlle DESMARETS (1928). — Sur la rapidité de la dissolution des principes immédiats au cours de la percolation. I. Tourteau d'amandes amères. II. Tourteau de coton. *Journ.*

- Pharm. et Chim.*, (8), t. 7, pp. 153, 201, 433. *Bull. Sc. Pharm.*, 1929, 36, p. 654.
- BUCHI (von J.) et FEINSTEIN (K.) (1936). — Theoretische und praktische Untersuchungen über das Perkolationverfahren, Zurich. *Pharm. Acta Helvetiae*, 11 Jahrgang, 6, 8, 10, et 11, pp. 121 209, 279, 334.
- BUIGNET (1857). — Observations et expériences sur la méthode de déplacement comme moyen de préparer les teintures alcooliques et les vins médicinaux. *Journ. Pharm. et Chim.*, (3), t. 32, p. 161.
- BURMANN (J.) (1912). — Sur le développement des principes actifs de quelques plantes médicinales. *Journ. Suisse Chim. et Pharm.*, 50, p. 2.
- CADET DE GASSICOURT (1816). — *Journ. Pharm. et Chim.*, 2, pp. 165, 468.
- CAESAR et LORETZ. — *Geschäfts-Bericht*, sept., p. 101.
- CAMPBELL (1869). — *Amer. Journ. Pharm.*, 41, p. 384.
- CAPILLÉRY (E.) (1909). — Etude comparée des procédés de solution extractive par l'eau. *Th. Doct. Pharm.*, Montpellier.
- CAPILLÉRY (E.) (1910). — Quelques résultats obtenus avec le lixiviateur Astruc à eau chaude. *Journ. Pharm. et Chim.*, (7), t. 1, p. 54. *Bull. Sc. Pharm.*, 17, p. 246.
- CHEVALLIER (J.) (1905). — Note sur un Aconit. *Bull. Soc. Thérap.*, (4), 10, p. 355.
- CONFÉRENCE DE BRUXELLES (1902). — Conférence internationale pour l'unification de la formule des médicaments héroïques. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 16, pp. 337, 353.
- La deuxième conférence internationale pour l'unification de la formule des médicaments héroïques. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1925, (8), t. 2, pp. 352, 406.
- COTTON (1907). — *Bull. Pharm. Lyon*, 27, p. 192.
- COUCH (1920). — *Amer. Journ. Pharm.*, 92, p. 770.
- DEANE (1841). — *Pharm. Journ.*, 1, p. 61.
- DÉJEAN (E.) (1909). — Etude comparative du principe de quelques alcoolatures et teintures. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 29, p. 274.
- DIEHL (1878). — *Proceed. Amer. Pharm. Ass.*, 26, p. 692 ; 1879, 27, p. 727.

- DOHME (1921). — The assay of Aconite. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 10, p. 428. *Pharm. Era*, 54, p. 197.
- DOMERGUE (A.) (1892). — Les teintures alcooliques de la pharmacopée française. *Th. Doct. Pharm.*, Marseille.
- DUHAMEL (1838). — *Amer. Journ. Pharm.*, 10, p. 1.
- DUNSTAN et PASSMORE (1892). — Contribution to our knowledge of the Aconite alkaloïds. *Journ. Chem. Soc.*, 61, p. 395.
- ECALLE (H.) (1901). — Dosage de l'aconitine dans les préparations d'Aconit. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 14, p. 97. *Bull. Sc. Pharm.*, 4, p. 77.
- ECALLE (H.) (1902). — Des préparations officinales d'Aconit. *Th. Doct. Pharm.*, Paris.
- FORD (J. C.), FORD (C. P. S.) et WINE (J. E.) (1915). — A comparison of the guinea-pig and cat methods for the physiological standardization of Aconite preparations. *Amer. Journ. Pharm.*, 87, p. 489.
- FREUDWILLER (1934). — *Pharm. Acta Helvetiae*, 6, p. 219.
- FREUND et BECK (1894). — Zur kenntniss des Aconitins. *Ber Deuts. Chem. Gesel.*, 27, p. 433.
- GALLOIS (1885). — De la lixiviation et de son application à la préparation des teintures alcooliques. *Th. Doct. Pharm.*, Paris.
- GARDNER (1905). — *Pharm. Journ.*, 74, pp. 548, 556.
- GAY (F.) (1897). — La percolation. *Bull. Pharm. Sud-Est*, p. 108.
- GEIGER (1817). — Beschreibung der Realschen Auflosungspresse, Heidelberg.
- GEIGER (1825). — *Mag. f. Pharm.*, 9, p. 176. *Liebigs Ann. Chem.*, 1835, 15, p. 80.
- GIRAULT (F.) (1934). — Les dosages d'alkaloïdes dans les préparations pharmaceutiques. *Journ. Pharm. et Chim.*, (8), t. 19, pp. 499, 537.
- GIRAULT (F.) (1934). — Les teintures alcooliques de la pharmacopée française. *Th. Doct. Pharm.*, Marseille.
- GIROUX (J.) (1936). — Recherches biologiques sur les Ericacées languedociennes. *Th. Doct. Sc.*, Paris.
- GITHENS AND VANDERKLEED (1910). — Physiologic standardization of cardiac stimulants and depressants. *Proceed. Amer. Pharm. Ass.*, 58, p. 919.
- GORIS (A.) (1919). — La lixiviation. *Bull. Sc. Pharm.*, 26, p. 465.

- GORIS (A.) (1931). — Sur la nécessité de doser physiologiquement les préparations d'Aconit. *Bull. Sc. Pharm.*, 38, p. 677. *Bull. Acad. Méd.*, 106, p. 390.
- GORIS (A.) et MÉTIN (M.) (1925). — Altération des solutions d'aconitine au cours de leur vieillissement. *C. R. Ac. Sc.*, 180, p. 1443.
- GRAHAM (1858). — *Amer. Journ. Pharm.*, 30, p. 354.
- GUILLERMOND (1835). — De l'emploi de la méthode de déplacement *Journ. Pharm. et Chim.*, 21, p. 345.
- HAAG (H. B.) et HAWKINS (L. W.) (1930) La qualité de l'Aconit. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 19, p. 1284. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1931, (8), t. 14, p. 535.
- HASKELL (Ch. C.) (1916). — Seasonal variation in the resistance of the guinea-pig to poisoning by tincture of Aconite. *Amer. Journ. Pharm.*, 88, p. 243.
- HASKELL (Ch. C.) and THOMAS (H. B.) (1916). — A comparison of results secured by the use of the guinea-pig and cat methods for the assay of tincture of Aconite. *Amer. Journ. Pharm.*, 88 p. 3.
- HASKELL (Ch. C.) et ZIRKLE (H. W.) (1915). — A comparison of the results secured by the use of chemical and physiological assay methods for tincture of Aconite. *Amer. Journ. Pharm.*, 87, p. 537.
- HATCHER et LICHTMANN (1921). — Economy of time in percolation. *Amer. Journ. Pharm.*, 93, p. 534. *Journ. Pharm. et Chim.*, (7), t. 25, p. 148.
- HERZOG (1905). — *Arbeiten Pharm. Inst. Berlin*, 3, p. 87 ; 1906, 4, p. 279.
- HUNT in HASKELL et ZIRKLE (1915). — *Amer. Journ. Pharm.*, 87, p. 537.
- HUSA et HUYCK (1936). — *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 25, p. 110.
- HUSA et HUYCK (1938). — Extraction des drogues. La diacolation modifiée. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 28, p. 290.
- HUSA et HUYCK (1938). — Extraction des drogues. L'influence de la forme du percolateur sur l'efficacité de l'extraction. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 27, p. 205.
- HUSA et MAGID (1934). — *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 23, pp. 891, 980.
- HUSA et YALES (1935). — *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 24, p. 538.
- JARVIS (J.) (1912). — Etude comparée de la préparation et du dosage

- des teintures héroïques d'après les diverses pharmacopées. *Th. Doct. Pharm.*, Bordeaux.
- JONESCO-MATIU (A.) et VARCOVICI (H.) (1928). — Le dosage des principes alcaloïdiques dans les formes pharmaceutiques par la méthode mercurimétrique. *Bull. Sc. Pharm.*, 35, p. 417. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1929, (8), t. 9, p. 547.
- KELLER (M. C.) (1894). — Mitteilungen über die Wertbestimmung von Drogen. *Schweiz. Wochensch. f. Chem. u. Pharm.*, 32, p. 68 ; 1895, 33, pp. 126, 137, 143.
- KELLER (M. C.) (1894). — Dosage des alcaloïdes dans l'Aconit et la Belladone. *Apoth.-Zeit.*, p. 163. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1896, (6) t. 3., p. 301.
- KELLY et KRANTZ (1924). — *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 13, p. 815.
- KESSLER (1934). — *Pharmaz. Zeit.*, 79, pp. 635, 823 ; 1935, 80, p. 1080.
- KOCK (1935). — *Pharmaz. Zeit.*, 80, p. 1170.
- LABORDE (M.) (1876). — Sur les propriétés pharmacodynamiques de l'aconitine des Pyrénées. *Journ. Thérap.*, 3, p. 267.
- LÉGER (E.) (1927). — Lixiviation ou macération. *Journ. Pharm. et Chim.*, (8), t. 5, p. 577. *Bull. Sc. Pharm.*, 1928, 35, p. 136.
- LLOYD (1878) — *Amer. Journ. Pharm.*, 50, p. 1.
- LYONS (A. B.) (1886). — Manual of Pharmaceutical assays, *Detroit*, p. 52.
- LYONS (A. B.) (1908). — The Aconite assay of U. S. P. *Amer Drugg. and Pharm. Record*, 52, p. 89.
- MALMANCHE (Mme A.) (1929). — Dosages chimiques et physiologiques des préparations d'Aconit. *Th. Doct. Pharm.*, Paris.
- MANDELIN (1885). — Zur Lösung der Aconitinfrage. *Archiv. der Pharm.*, (3), 23, pp. 97, 129, 161.
- MARIGNAC (1864). — Préparation de l'acide silicotungstique. *Ann. Chim. et Pharm.*, (4), t. 3, p. 5.
- MÉTIN (M.) (1925). — Variations de la teneur alcaloïdique de l'Aconitum Napellus L. *Th. Doct. Pharm.*, Paris.
- MONNET (1879). — Les extraits liquides préparés par la méthode de Squibb dite de repercolation. *Répert. de pharm.*, (2), t. 7., p. 345.
- MUNCH (J. C.) et GITTINGER (G. S.) (1929). — Bio-assay of Aconite and its preparations. I. Lethal dose of aconitine to rats. *Journ.*

- Amer. Pharm. Ass.*, 18, p. 17. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1931, (8), t. 13, p. 19.
- MYTTENAERE (F. de) (1908). — La teinture d'Aconit et la détermination de son titre alcaloïdique. *Ann. Pharm. Ranwez.*, 14, p. 147. *Bull. sc. Pharm.*, 1909, 16, p. 124.
- OLDBERG (O.) (1884). — Standard dimensions for Percolators. *Pharm. Journ.*, 15, p. 364.
- PALME (1918). — *Arch. Pharmaz.*, 256, p. 242.
- PANCHAUD (A.) (1903). — Alkalöidbestimmung der Drogen (Allgemeiger Theil ; Spezieller Theil). *Schweiz. Wochensch. f. Chem. u. Pharm.*, pp. 483, 494, 511, 512, 523, 532, 569, 575. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1904, (6), t. 19, pp. 213, 259.
- PERSONNE (1845). — Mémoire sur les teintures alcooliques. *Journ. Pharm. et Chim.*, 8 p. 404.
- PROCTER (1839). — *Amer. Journ. Pharm.*, 11, p. 189 ; 1859, 31, p. 317 ; 1864, 36, p. 1.
- RAUBENHEIMER (1910). — *Amer. Journ. Pharm.*, 82, p. 36.
- RÉAL (1816). — *Journ. Pharm. et Chim.*, 2, p. 468.
- REDWOOD (Th.) (1863). — On the preparation of tinctures, by percolation, macération, and the automatic process, with remarks on the new method introduced in the british pharmacopoeia and suggestions for its improvement. *Pharm. Journ.*, (2), 5, p. 533.
- REMINGTON (1926). — Practice of Pharmacy, London, Lippincott, p. 237.
- RIBAUT (H.) (1910). — Sur le dosage de l'aconitine par l'acide silicostique. *Bull. sc. Pharm.*, 17, p. 364. *Répert. pharm.*, 1911, (3), t. 23, p. 17.
- ROBBINS (1878). — *Amer. Journ. Pharm.*, 50, p. 329.
- ROBIQUET (1835). — Méthode de déplacement. Observations sur ce sujet. *Journ. Pharm. et Chim.*, 21, p. 113.
- ROBIQUET (1851). — Note sur un nouveau modèle d'appareil de déplacement. *Journ. Pharm. et Chim.*, (3), t. 20, p. 168.
- ROSENWASSER (1881). — *Amer. Journ. Pharm.*, 53, p. 567. *Proceed. Amer. Pharm. Ass.*, 30, p. 519.
- ROTH (1913). — The physiological assay of Aconite. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 2, p. 705.
- SAVAGE (W. D.) (1864). — On the processes for preparing some of the

- tinctures of the pharmacopoeias. *Pharm. Journ.*, (2), 6, p. 254.
- SCHMITT (L.) (1904). — Les teintures alcooliques des drogues héroïques. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 19, pp. 5, 56, 126, 190.
- SCOVILLE (W. L.) (1919). — The permanence of alhaloidal fluidextracts and tinctures. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 8, p. 799.
- Journ. Pharm. et Chim.*, (7), t. 21, p. 132.
- SOUBEIRAN (1836). — *Amer. Journ. Pharm.*, 8, p. 221.
- SOUBEIRAN (E.) et REGNAULD (J.) (1885). — *Traité de pharmacie. Masson éd., Paris* (9e éd.)
- SQUIBB (1858). — *Amer. Journ. Pharm.*, 30, p. 97 ; 1867, 39, pp. 289, 398, 513.
- SQUIBB (1878). — *Proceed. Amer. Pharm. Ass.*, 26, p. 708.
- STEVENS (A. B.) (1903). — A comparaison of the chemical and physiological method of assay. *Pharm. Arch.*, 6, p. 50.
- STEVENS (A. B.) (1911). — The assay of Aconite. *Pharm. Journ.*, (4), 33, n° 2490, p. 33. *Bull. sc. Pharm.*, 1912, 19, p. 64.
- STODDART AND TUCKER (1872). — The tinctures and wines of the british pharmacopoeia. *Pharm. Journ.*, (3), 3, p. 213.
- STOEDER (M.) (1901). — Dosage des alcaloïdes dans les extraits d'Aconit, de Belladone et de Jusquiame. *Journ. Pharm. et Chim.*, (6), t. 14, p. 297. *Pharmaz. Zeit.*, 46, p. 541. *Pharm. Weekbl.* n° 22.
- SWANSON (E.) (1924). — The standardization and stabilization of Aconite preparations. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 13, p. 1108.
- Journ. Pharm. et Chim.*, (8), t. 2, p. 240.
- SWANSON (E.) et HARGREAVES (C.) (1927). — The stabilization and standardization of Aconite preparations. *Journ. Amer. Pharm. Ass.*, 16, p. 296. *Journ. Pharm. et Chim.*, (8), t. 7, p. 345.
- SWANSON (E.) et WALTERS (A.) (1923). — The standardization and stabilization of Aconite preparations. *Journ. Amer. Pharm. Ass.* 12, p. 957. *Bull. sc. Pharm.*, 1927, 34, p. 314.
- TAYLOR (1869). — *Proceed. Amer. Pharm. Ass.*, 17, p. 390.
- TAYLOR (1909). — Aconite. *Journ. of Indus. and Engin. Chem.*, 1, p. 549.
- TRUNKELL (1933). — *Pharmaz. Zeit.*, 78, p. 1054.
- VOTOCEK (E.) et KASPAREK (L.) (1923). — Sur le titrage de l'ion mercurique (Hg^{++}) par l'ion chlore (Cl^{-}) et son application à

- l'analyse du cinabre et des dérivés organiques du mercure. *Bull. soc. Chim.*, p. 110.
- WARIN (1901). — Étude comparative sur la préparation de quelques extraits fluides. *Th. Doct. Pharm.*, Paris.
- WIELEN (VAN DER) (1928). — Commentaar op de Nederlandsche Pharmacopee, vijfde uitgave, Bd. II, p. 455.
- WOBBE (1899). — Zur Technik der Perkolation. *Apoth.-Zeit.*, 14, p. 312.
- WRIGHT (A.) (1877). — Third report on the chemistry of the Aconite alkaloids. *Pharm. Journ. and. Transac.*, (3), 8, p. 164.
- WYROUBOFF (1896). — Préparation de l'acidesilicotungstique. *Bull. Soc. Miner. France*, t. 19, p. 227.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	7
INTRODUCTION	9

PREMIÈRE PARTIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA LIXIVIATION

CHAPITRE I. — Historique	16
CHAPITRE II. — Théorie	21
CHAPITRE III. — Mode opératoire.....	27
A. — L'appareillage	27
I. Percolateurs pour liquides non volatils	27
II. Percolateurs pour liquides volatils.....	33
B. — La drogue et le solvant.....	35
I. Drogue	35
Degré de finesse de la poudre	35
Degré d'humidité de la poudre.....	37
II. Solvant	37
Nature	37
C. — La technique.....	38
1 ^o Humectation préalable.....	38
2 ^o Remplissage du percolateur et durée de l'influx...	41
3 ^o Macération dans le percolateur.....	43
4 ^o Ecoulement du percolé.....	46
5 ^o Déplacement du liquide extractif retenu dans le marc.....	50
Méthodes annexes	52
CHAPITRE IV. — Lixiviation à chaud.....	57

DEUXIÈME PARTIE

APPLICATION A LA TEINTURE D'ACONIT

CHAPITRE I.— Généralités sur la préparation de la teinture d'Aconit	62
A.— Historique de la préparation de la teinture d'Aconit	62
I. En France.....	62
II. A l'étranger.....	65
B. — Dosage de l'activité de la teinture d'Aconit.....	66
I. Dosage chimique	66
II. Dosage physiologique.....	73
CHAPITRE II. — Recherches personnelles.....	83
A. — Comparaison des teintures des Codex de 1908 et de 1937.....	83
I. Modifications du Codex de 1937.....	83
1 - Degré de finesse de la poudre.....	83
2 - Degré alcoolique.....	85
3 - Conduite de la lixiviation.....	90
II. Constantes de la nouvelle teinture.....	97
B. — Essais de la lixiviation à chaud.....	100
I. Appareil	101
II. Résultats	104
— à 35°.....	
— à 50°.....	
·RÉSUMÉ et CONCLUSIONS.....	113
BIBLIOGRAPHIE	119

En ma qualité de censeur de
tour, j'ai lu la thèse ayant pour
titre : « Contribution à l'étude
de la lixiviation. — Application
à la teinture d'Aconit »

par Mlle J. BÉRANGER

Je pense que la Faculté peut
en permettre l'impression.

Montpellier, le 7 Janvier 1939

Le Professeur,

ASTRUC

Vu :

Montpellier, le 7 Janvier 1939

Le Doyen,

ASTRUC

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 7 Janvier 1939

Le Recteur,

PARISELLE

IMPRIMERIE
MACABET FRÈRES
VAISON-LA-ROMAINE
(Vaucluse)
